

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA



Tesis Doctoral

**ANÁLISIS DE UTILIDAD DEL ESTUDIO GENÉTICO
EN LAS EPILEPSIAS PERCIBIDO POR FAMILIARES
Y PERSONAL MÉDICO**

Víctor Soto Insuga

Bajo la dirección de

Doctor Jose María Serratos Fernández

Profesor Leandro Soriano Guillén

Madrid 2018



Don **Leandro Soriano Guillén**, Profesor Titular del Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid y Jefe del Servicio de Pediatría de la Fundación Jiménez Díaz,

INFORMA:

Que **Víctor Miguel Soto Insuga**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad Complutense de Madrid y especialista en Pediatría y sus Áreas específicas ha realizado bajo su dirección los trabajos de investigación correspondientes a la tesis doctoral titulada: **“Análisis de la utilidad del estudio genético en las epilepsias percibida por familiares y personal médico”**.

Revisado el presente trabajo, estimo que se corresponde fielmente a los resultados obtenidos y quedo conforme con su presentación para ser juzgado por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste a los efectos oportunos, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firma la presente en Madrid, a dieciocho de abril del dos mil dieciocho.

Prof. Leandro Soriano Guillén



El **Profesor Jose María Serratosa Fernández**, profesor asociado del Departamento de Neurología de la Universidad Autónoma de Madrid, acreditado a profesor titular y Jefe del Servicio de Neurología de la Fundación Jiménez Díaz

INFORMA:

Que **Víctor Miguel Soto Insuga**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad Complutense de Madrid y especialista en Pediatría y sus Áreas específicas ha realizado bajo su dirección los trabajos de investigación correspondientes a la tesis doctoral: **“Análisis de la utilidad del estudio genético en las epilepsias percibida por familiares y personal médico”**.

Revisado el presente trabajo, estimo que se corresponde fielmente a los resultados obtenidos y quedo conforme con su presentación para ser juzgado por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste a los efectos oportunos, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firman la presente en Madrid, a veintitrés de abril de 2018.

Prof. Jose María Serratosa

“No teníamos tiempo para mirar atrás, pero
cuando lo hicimos nos dimos cuenta que
habíamos sido felices”

“Sean realistas: pidan lo imposible”

Daniel Cohn-Bendit (Mayo 1968)

Para Laura y mis locos bajitos,

Que me enseñaron que bajo los adoquines siempre hay arena de playa

Para mis padres, que me dieron todo lo que soy

Para mi familia, haciéndose sentir a mi lado

Para las musas y musos que te van rescatando del camino

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ARN: Ácido ribonucleico.

BFIS: Epilepsia lactante benigna familiar (del inglés "*Benign Familial Infantile Seizures*").

BFNS: Epilepsia neonatal benigna familiar (del inglés *Benign Familial Neonatal Seizures*).

CDG: Defectos Congénitos de Glicosilación.

CGH: Hibridación genómica comparativa (del inglés *Comparative Genomic Hybridization*).

CGTC: Crisis Generalizadas Tónico-Clónicas (CGTC).

CI: Cociente Intelectual.

CNVs: Variantes en el Número de Copias.

DI: Discapacidad Intelectual

DSM Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (del inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*).

ECM: Error Congénito del Metabolismo.

EEG: Electroencefalograma.

EEs: Encefalopatías Epilépticas.

EF: Epilepsias Focales.

EFI: Epilepsias Focales Idiopáticas.

EG: Epilepsias Generalizadas.

EMML: Epilepsia Migratoria Maligna del Lactante.

EOAE: Ausencias de inicio precoz (del inglés *Early Onset Absence Epilepsy*).

FAE: Fármaco Anti-Epiléptico.

FISH: Hibridación por fluorescencia *in situ* (del inglés *Fluorescence In Situ Hybridization*).

GEFS+: Epilepsia generalizada con crisis febriles plus (del inglés *Generalised Epilepsy with Febrile Seizure plus*).

GLUT1: Deficiencia de transportador de glucosa cerebral.

GOF: Ganancia de función (del inglés *Gain Of Function*).

GWAS: Estudio de asociación del genoma completo (del inglés *Genome-Wide Association Study*).

ILAE: Liga Internacional contra la Epilepsia (del inglés *International League Against Epilepsy*).

LCR: Líquido Céfal-Raquideo.

LOF: Pérdida de función (del inglés *Loss Of Function*).

MDC: Malformación del Desarrollo Cortical.

MLPA: Amplificación de múltiples sondas dependientes de ligación (del inglés *Multiplex Ligation Probe Amplification*).

NGS: Técnicas de secuenciación masiva (del inglés *Next Generation Sequencing*).

PET: Tomografía por Emisión de Positrones.

RI: Rango Intercuartílico.

RM: Resonancia Magnética.

SUDEP: Muerte súbita inexplicada en paciente epiléptico (del inglés *Sudden Unexpected Death in Epilepsy Patients*).

TDAH: Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad.

TEA: Trastorno del Espectro Autista.

POCS: Punta Onda Continua durante el Sueño.

VUS: Variantes de significado incierto (del inglés *Variants of Unknown Significance*).

WES: Exoma completo (del inglés *Whole Exome Sequencing*).

WGS: Secuenciación genómica (del inglés *Whole-Genome Sequencing*).

ÍNDICE

ÍNDICE

1. RESUMEN	31
2. INTRODUCCIÓN	37
2.1. Generalidades de la epilepsia	
2.1.1. Definición de epilepsia	39
2.1.2. Epidemiología	39
2.1.3. Clasificaciones	40
2.1.4. Repercusión	45
2.2. Generalidades de la genética	
2.2.1. Alteraciones genéticas como causa de enfermedad	48
2.2.2. Métodos diagnósticos en genética	52
2.3. Genética de las epilepsias	
2.3.1. Recuerdo histórico de la epilepsia como enfermedad genética	57
2.3.2. Dificultad en el diagnóstico genético de las epilepsias	
2.3.2.1. Relación genotipo-fenotipo	61
2.3.2.2. Importancia del fenotipado	64
2.3.3. Causas genéticas en epilepsia	
2.3.3.1. Importancia de la genética en la epilepsia	64
2.3.3.2. Alteraciones genéticas de las encefalopatías epilépticas	66
2.3.3.3. Alteraciones genéticas de las epilepsias generalizadas	73
2.3.3.4. Alteraciones genéticas de las epilepsias focales	75
2.3.3.5. Alteraciones genéticas de las epilepsias familiares	77
2.3.4. Futuro en la genética de las epilepsias	79
2.4. Utilidad del diagnóstico genético	
2.4.1. Utilidad en otras enfermedades médicas	80
2.4.2. Utilidad en epilepsia	81

3. JUSTIFICACIÓN	83
4. HIPÓTESIS	87
5. OBJETIVOS	91
6. PACIENTES Y MÉTODOS	95
6.1. Población a estudio	
6.1.1. Criterios de inclusión	97
6.1.2. Investigadores participantes	99
6.2. Técnicas genéticas	99
6.3. Variables recogidas	
6.3.1. Información clínica de los pacientes	101
6.3.2. Repercusión del diagnóstico genético sobre la orientación médica de los pacientes	104
6.3.3. Repercusión del diagnóstico genético en el paciente y familiares	105
6.4. Análisis estadístico	106
6.5. Comité ético	109
6.6. Financiación	110
7. RESULTADOS	111
7.1. Características de la muestra	
7.1.1. Selección de la muestra	113
7.1.2. Características clínicas de la muestra (fenotipo)	
7.1.2.1. Características demográficas	114
7.1.2.2. Características clínicas	114
7.1.2.3. Características de la epilepsia	115
7.1.2.4. Características de las pruebas complementarias	115
7.1.2.5. Características del estudio genético	116
7.2. Características genéticas (genotipo)	
7.2.1. Alteraciones genéticas patogénicas o probablemente patogénicas	135
7.2.2. Variantes de significado incierto (VUS)	147

7.3. Relación de las características clínicas con la presencia de alteraciones genéticas	149
7.4. Utilidad del estudio genético percibida por médicos	
7.4.1. Resultados generales de la encuesta acerca de la utilidad médica	
7.4.1.1. Utilidad en el conocimiento de la epilepsia	152
7.4.1.2. Utilidad en la orientación médica	152
7.4.1.3. Utilidad global del estudio genético	156
7.4.2. Relación de las variables de la encuesta médica con la presencia de alteraciones genéticas	157
7.4.3. Relación de las variables de la encuesta médica con las características clínicas en los pacientes con alteración genética	162
7.4.4. Análisis de la preferencia en la elección de pruebas complementarias	165
7.4.5. Opiniones médicas sobre la utilidad del estudio genético	168
7.5. Utilidad del estudio genético percibida por el paciente y/o familiares	
7.5.1. Resultados generales de la encuesta acerca de la utilidad médica	
7.5.1.1. Utilidad en el conocimiento de la enfermedad	170
7.5.1.2. Utilidad en el manejo médico	170
7.5.1.3. Utilidad en la calidad de vida	170
7.5.2. Relación de las variables de la encuesta de utilidad en familiares con la presencia de alteraciones genéticas	170
7.5.3. Reacción de los familiares ante el resultado del estudio genético	176
7.6. Análisis de costes de los estudios etiológicos	178
8. DISCUSIÓN	183
8.1. Impacto del estudio genético en los aspectos médicos	185
8.2. Impacto del estudio genético en pacientes y familiares	199
8.3. Costes del estudio genético	201
8.4. Características de los pacientes con epilepsia genética	203
9. LIMITACIONES	207

10. CONCLUSIONES	211
11. BIBLIOGRAFÍA	215
12. ANEXOS	237
12.1. Investigadores y hospitales participantes	239
12.2. Informe del Comité Ético e Investigación Clínica del Instituto de Investigación Clínica de la Fundación Jiménez Díaz	243
12.3. Consentimiento informado: "Impacto del estudio genético de las epilepsias"	245
12.4. Consentimiento informado: "Genética molecular de las epilepsias"	247
12.5. Características de los estudios etiológicos realizados en los pacientes del estudio	249
12.6. Publicaciones en monografías o revistas científicas indexadas derivadas del estudio	261
12.7. Ponencias en congresos relacionados con el estudio	289
12.8. Charlas como ponente relacionadas con el estudio	295
12.9. Becas concedidas relacionadas con el estudio	297

ÍNDICE de FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las crisis epilépticas	42
Figura 2. Clasificación de tipos de epilepsia	43
Figura 3. Ejemplo del solapamiento de causas genéticas-estructurales-metabólicas. Variantes patogénicas tanto del gen <i>DEPDC5</i> (implicado en el desarrollo de epilepsias focales aisladas y familiares) así como en el gen <i>ALDH7A1</i> (causante de epilepsia dependiente de piridoxina) están relacionados con el correcto desarrollo cerebral; de forma que alteraciones en dichos genes son causa también de MDC	45
Figura 4. Formas de herencia "clásicas"	50
Figura 5. Formas de herencia "no clásicas"	51
Figura 6. Historia de la genética de las epilepsias	58
Figura 7. Artículos publicados en Pubmed. Resultados al aplicar en los criterios de búsqueda; " <i>epilepsy AND genetics</i> "	61
Figura 8. Etiología de las epilepsias	66
Figura 9. Algoritmo diagnóstico de las encefalopatías epilépticas	98
Figura 10. Encuesta de utilidad entregada a los médicos participantes	107
Figura 11. Encuesta entregada a los familiares del estudio	108
Figura 12. Diagrama de flujo de pacientes	113
Figura 13. Utilidad clínica en función de presencia de alteraciones genéticas	158
Figura 14. Preferencias médicas de pruebas complementarias para el estudio de epilepsia	166

Figura 15. Aspectos positivos referidos por médicos respecto a la utilidad de los análisis genéticos	168
Figura 16. Aspectos críticos referidos por médicos respecto a la utilidad de los análisis genéticos	169
Figura 17. Relación entre respuesta de familiares y tiempo hasta el diagnóstico genético	175
Figura 18. Opiniones positivas de los familiares acerca de la utilidad del estudio genético	177
Figura 19. Opiniones críticas (negativas) de familiares sobre utilidad del estudio genético	177
Figura 20. Coste de las pruebas complementarias empleadas en los pacientes de nuestra cohorte	179
Figura 21. Cambios de protocolo de estudio etiológico en encefalopatías epilépticas	191

ÍNDICE de TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Estudios genéticos mediante array CGH de encefalopatías epilépticas	68
Tabla II. Estudios genéticos mediante NGS de encefalopatías epilépticas	72
Tabla III. Características epidemiológicas, clínicas y genéticas de los pacientes	118
Tabla IV. Características clínicas de los pacientes (con variantes patogénicas, probablemente patogénicas o VUS)	124
Tabla V. Variables clínicas cuantitativas según la presencia de alteración genética	150
Tabla VI. Variables clínicas cualitativas según presencia de alteraciones genética	151
Tabla VII. Cambio de pronóstico tras resultado del estudio genético	153
Tabla VIII. Modificaciones de tratamiento tras resultado del estudio genético	155
Tabla IX. Variables cualitativas de la encuesta médica según la presencia de alteraciones genéticas	161
Tabla X. Grado de significación estadística de la relación entre: variables de la encuesta médica y características clínico-epidemiológicas en pacientes con "mutación" genética	164
Tabla XI. Reacción de los padres según la edad en pacientes con alteración genética	165
Tabla XII. Variables de la encuesta de utilidad realizada a familiares según presencia de alteraciones genéticas	171
Tabla XIII. Variables de reacción de familiares según presencia de alteraciones genéticas	174
Tabla XIV. Comparativa de costes de estudios genéticos y no-genéticos	181

1. RESUMEN

1. RESUMEN

Introducción

Se estima que hasta el 75% de las epilepsias son debidas a defectos genéticos. El gran avance en las técnicas diagnósticas genéticas, al que estamos asistiendo en los últimos años, está permitiendo que conozcamos las bases fisiopatológicas de muchas de las epilepsias e identificar cada vez más genes causales, especialmente en aquellas de inicio precoz y con fenotipo más agresivo. El desarrollo de la farmacogenómica permitirá probablemente, en un futuro, la implantación de terapias específicas e individualizadas según el defecto genético de cada paciente, pero no existen estudios que valoren el impacto actual del abordaje genético en pacientes con epilepsia.

Objetivos

Analizar la utilidad del diagnóstico genético en el paciente con epilepsia, tanto la percibida por médicos como por los familiares.

Material y Métodos

Se seleccionaron a aquellos pacientes con epilepsia en los que se había realizado un estudio etiológico genético (Laboratorio de Genética de las Epilepsias de la Fundación Jiménez Díaz). Se entregaron encuestas de diseño propio, en las que se preguntaban por diferentes aspectos de utilidad, a los médicos responsables del paciente y a sus familiares. Se recogió el fenotipo de los pacientes mediante revisión de historia clínica.

Resultados

Se analizaron 218 encuestas respondidas por médicos y 63 encuestas respondidas por los familiares de pacientes, así como su fenotipo. Entre las características clínicas de esta muestra (50,9% varones y una mediana de edad de 9 años) destaca que la mayoría eran epilepsias graves (51,37% encefalopatías epilépticas), de inicio precoz (57,58% inicio en los

dos primeros años de vida), con frecuente regresión en el neurodesarrollo asociado a la epilepsia (32,09%) y que presentaban algún tipo de trastorno de aprendizaje (82,33%). La mediana de tiempo desde el debut de la epilepsia hasta el inicio del estudio genético fue de 36 meses (rango 15 días-52 años). Mediante el estudio genético se identificaron 61 alteraciones patogénicas (27,98%), 19 probablemente patogénicas (8,71%), 9 variantes clínicas de significado incierto (4,13%) y en 129 pacientes no se encontraron defectos genéticos o estos fueron considerados benignos o probablemente benignos (59,17%). Al analizar las características clínicas de los pacientes se observó que en el grupo con "mutación" (variables patogénicas o probablemente patogénicas) fue más probable que presentaran una exploración neurológica alterada ($p < 0,001$), asociaran otras enfermedades médicas no neurológicas ($p 0,012$) y el inicio de su epilepsia fuera más precoz (media de 6 meses). Este análisis permitió identificar a familiares afectados en 15 ocasiones (6,88%).

- **Impacto médico:** el grado de utilidad de la prueba genética percibido por médicos fue alto, especialmente en aquellos casos en los que se identificó una variante patogénica (puntuación de valoración de utilidad: $9,1 \pm 1,3$). Fue en este grupo de pacientes "con mutación" donde el abordaje genético se relacionó con aspectos clínicos positivos como: modificar diagnósticos y tratamientos previos (59,5% y 32% respectivamente), mejorar el conocimiento de epilepsia (95%), permitir un consejo genético (87,3%) y ahorrar pruebas complementarias (92,5%). En ningún caso se observó una reacción negativa en los padres al informarles de los resultados genéticos. Fue entre los pacientes de menor edad en los que más se evitaran pruebas complementarias ($p 0,021$) y se pudo proporcionar un consejo genético ($p 0,008$), mientras que en los pacientes adultos fue más frecuente que se modificara el tratamiento ($p 0,027$). Cuanta menos demora hubo hasta obtener el resultado más se modificaron diagnósticos previos ($p 0,017$), y hubo una mayor percepción de utilidad ($p 0,002$). En las encefalopatías epilépticas fue más frecuente que se modificara el diagnóstico ($p 0,05$) y que se proporcionara consejo genético ($p 0,017$). El orden de preferencia de los médicos acerca del momento de realización de estudios etiológicos no se cumplió en muchos casos, de hecho el análisis genético se realizó después de pruebas

complementarias que consideraban menos importantes como resonancia craneal 1,5T en el 6,42% de las ocasiones, neuroimagen “no convencional” (resonancia craneal 3T, SPECT o PET) en el 27,98% de las ocasiones, estudio metabólico ampliado en el 37,61% y biopsia músculo/piel en el 10,55% de los pacientes.

- **Impacto en familiares:** la mayoría de los familiares consideraron el análisis genético como una herramienta útil, especialmente en los casos donde fue posible identificar una mutación causal (puntuación de valoración de utilidad: $8,4 \pm 2,3$). En este grupo de pacientes, el 43,8% refirió que el resultado genético les había supuesto una mejora en la calidad de vida, aparte de otros aspectos positivos como: comprender mejor la epilepsia (96,2%), decisiones reproductivas (88,9%), mejorar el manejo de la epilepsia (79,3%) y evitar pruebas complementarias (99,3). Aunque tras conocer el resultado genético la mayoría de los padres sintieron mayor ansiedad (72,12%) o tristeza (66,66%) estos sentimientos fueron disminuyendo cuanto más tiempo había pasado desde el momento del diagnóstico.
- **Costes:** el precio de los estudios no-genéticos fue más caro en la mayoría de los casos (78,38%) con un coste medio por paciente de 1.851,3€ *versus* 868,29€ de los estudios genéticos (RI 250-1.050). Esta diferencia fue mayor en el caso de las encefalopatías epilépticas (2360,55 € *versus* 1.060€). El tiempo medio transcurrido desde el debut de la epilepsia hasta el inicio del estudio genético fue de 7,82 años. En cambio, el tiempo medio empleado en las técnicas genéticas hasta la obtención del resultado fue de 1,26 años.

Conclusiones

El estudio genético en pacientes con epilepsia, especialmente en aquellos casos en que se encuentra una alteración genética, resulta de **utilidad** en mejorar el **conocimiento** de la enfermedad, cambiar o confirmar **diagnósticos** previos, **evitar** otros **estudios** etiológicos, modificar **tratamientos**, **identificar** a otros **familiares** afectados y proporcionar consejo genético. Asimismo el abordaje genético fue considerado por los familiares y los pacientes como una herramienta útil para el manejo de la epilepsia y para mejorar su **calidad de vida**. El análisis genético es una herramienta diagnóstica **rentable** tanto en costes directos como indirectos (*lead time*).

2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. GENERALIDADES DE LA EPILEPSIA

2.1.1. Definición de epilepsia

El término epilepsia deriva del griego *epilambaneim*, que significa "coger por sorpresa" y denomina a una enfermedad cerebral que se caracteriza por la predisposición a sufrir crisis epilépticas, definidas como aquellas manifestaciones clínicas paroxísticas resultantes de una actividad neuronal anormal, sincrónica y excesiva¹.

Tradicionalmente se diagnosticaba de epilepsia cuando un paciente presentaba al menos dos crisis no provocadas separadas más de 24 horas¹. Desde 2014 la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE, del inglés *International League Against Epilepsy*) amplió esta definición y actualmente se recogen otras dos situaciones que también deben considerarse como epilepsia: si tras una crisis existe una probabilidad de recurrencia en los siguientes diez años de más del 60% o presentar un síndrome epiléptico². De esta forma, no es imprescindible haber presentado crisis epilépticas para ser diagnosticado de epilepsia, como ocurre en la encefalopatía epiléptica tipo Landau-Keffner, en la que hasta un 25% de los pacientes no presentarán nunca crisis³.

2.1.2. Epidemiología

La probabilidad de presentar una crisis epiléptica a lo largo de la vida es de aproximadamente el 8%. Según meta-análisis recientes, la prevalencia de la epilepsia a lo largo de la vida es de 7,6/1.000 habitantes (95% CI 6,17–9,38), siendo de 6,35/1.000 habitantes (95% CI 5,57–7,3) en el caso de la de epilepsia activa. En los países con menor desarrollo económico la prevalencia es casi tres veces mayor: 138,9/1.000 vs 48,8/1.000 habitantes⁴.

Es preciso reseñar que la epilepsia es más frecuente en la infancia. Así, la tasa de incidencia es especialmente elevada en el primer año de vida (81-233/100.000 habitantes y año) alcanzando un pico en la primera semana de vida. Posteriormente, este porcentaje va descendiendo a lo largo de la etapa escolar (46-60/100.000 y año) hasta alcanzar una meseta en la adolescencia y en la edad adulta (20-40/100.000 y año). No es hasta los 65 años cuando vuelve a aumentar (100-170/100.000 y año)⁵.

En nuestro país disponemos de escasos datos epidemiológicos sobre epilepsia en la infancia. Hay que remontarse al año 2007 en el que Dura y colaboradores⁶ realizaron un estudio en Navarra donde demostraron que a medida que aumentaba la edad, disminuía la incidencia (95,3/100.000 habitantes y año el primer año de vida, descendiendo a 48,7/100.000 habitantes y año en la adolescencia), aumentaba el porcentaje de crisis focales (globalmente: 55% focales, 42% generalizadas) y cambiaban el tipo de síndrome epiléptico (encefalopatías epilépticas como síndromes epilépticos más frecuentes en lactantes vs epilepsias “benignas” de la infancia como síndrome epiléptico más frecuente entre escolares). En otro estudio más antiguo⁷ realizado en Albacete en menores de 10 años, la incidencia registrada ascendía a 45/100.00 habitantes y año (113/100.000 en el primer año de vida, 52/100.000 entre 1-5 años y 30/100.000 en la franja de edad de 6-10 años).

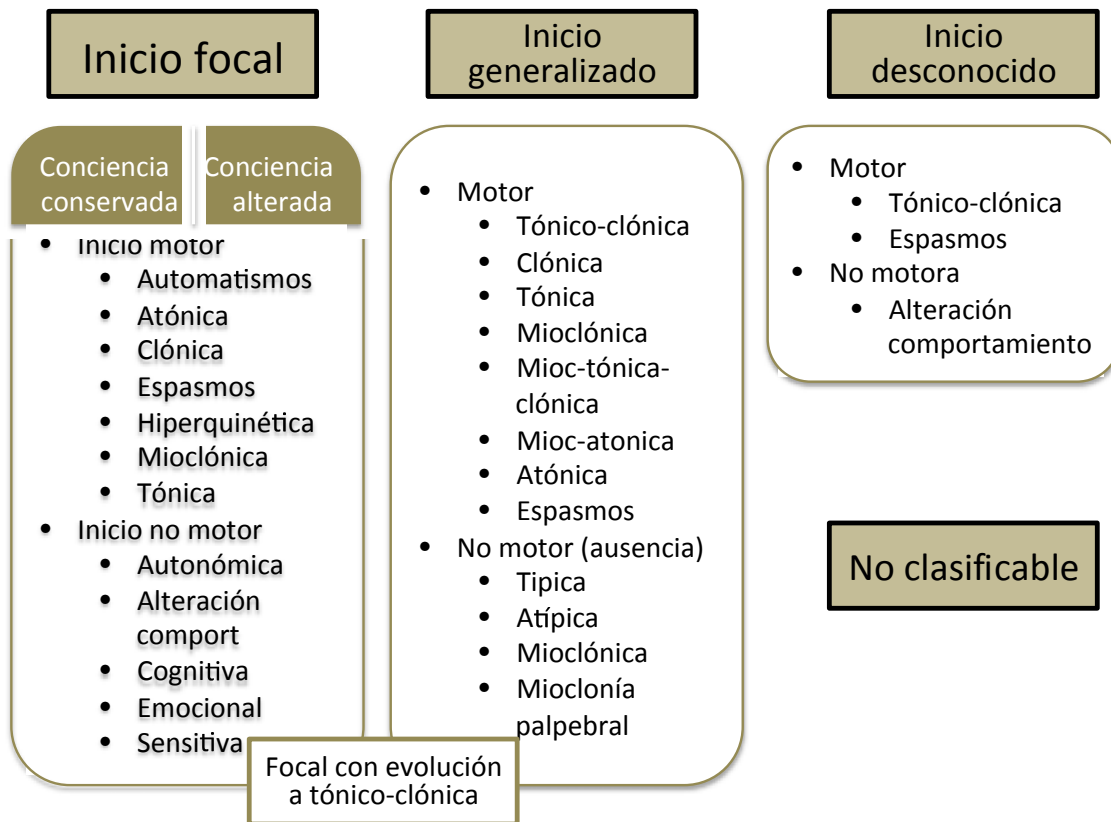
2.1.3. Clasificaciones

Al hablar de epilepsia no nos referimos a una enfermedad determinada, sino a numerosos trastornos con etiología, manifestaciones y pronósticos diferentes. La afirmación “no hay enfermedades sino enfermos” realizada por Gregorio Marañón es un axioma vigente en la práctica clínica habitual aunque, como en el resto de patologías, en epilepsia también es necesaria una clasificación que nos permita unificar criterios para mejorar el conocimiento y manejo de los pacientes.

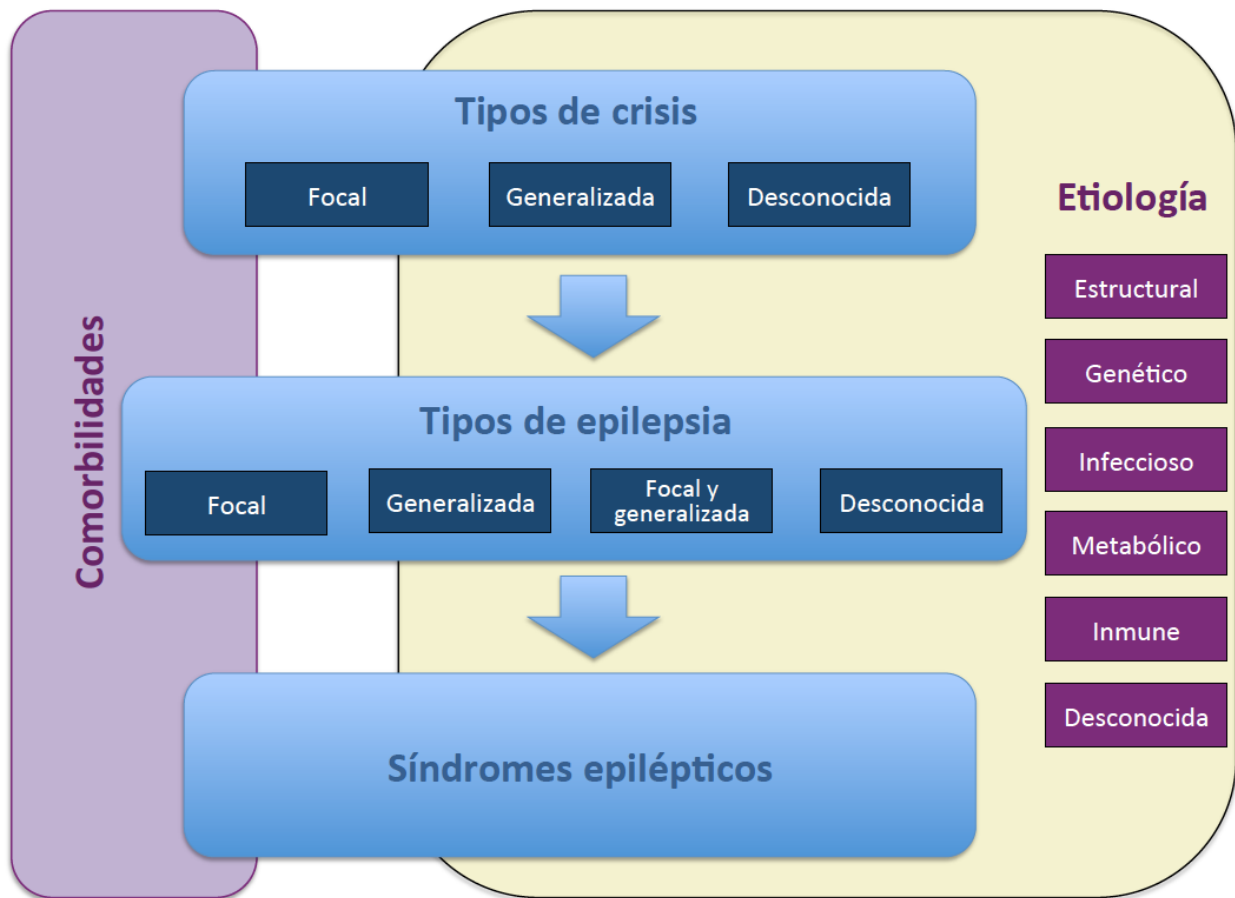
Desde las primeras clasificaciones de Gastaut a mediados del siglo XX junto con los posteriores consensos internacionales de la ILAE de 1981, pasando por clasificaciones basadas en criterios localizadores como la de Luders en 1998, otras más polémicas⁸ y llegando hasta las más actuales y operativas⁹⁻¹⁰ se han mantenido algunos criterios de clasificación de crisis tales como: crisis con mantenimiento *versus* con alteración del nivel de conciencia (antes denominadas simples/complejas), presencia de crisis con síntomas motores *versus* no convulsivos y, especialmente, crisis focales (antes denominadas parciales) frente a generalizadas (**Figura 1**). De esta forma, se considera que las crisis focales (aquellas que se originan en sistemas neuronales limitados a un hemisferio cerebral) son las más frecuentes con una prevalencia estimada del 55% (rango: 4-77%) especialmente en adultos. A continuación le siguen las crisis generalizadas (aquellas que tienen su inicio en redes neuronales distribuidas bilateralmente) con una frecuencia del 43%, que ocurren especialmente en niños menores de 5 años (rango 12-50%) y, por último, las que presentan una evolución bilateral (antes denominadas secundariamente generalizadas) (rango 16-25%) y las de origen desconocido 4% (rango 1-26%).

Aparte del tipo de crisis también ha habido un claro esfuerzo en clasificar los diferentes tipos de epilepsia. En este sentido, la clasificación realizada por la ILAE en 1989¹¹ introduce por primera vez el concepto de "síndrome epiléptico" entendido como aquellas epilepsias que comparten un conjunto de síntomas que son edad dependientes, un patrón electroencefalográfico característico, así como un determinado pronóstico y respuesta al tratamiento.

En cuanto a la etiología, la clasificación de 2010⁸ dividía las epilepsias en: **a)** genéticas o presumiblemente genéticas (antes llamadas idiopáticas) que engloban aproximadamente el 20-22% de las mismas; **b)** de origen estructural/metabólico (antes sintomáticas) cuya frecuencia se estima entre un 28-36%; **c)** de causa desconocida (antes llamadas criptogénicas) en el 42-50%⁴⁻⁵. En la última clasificación de 2017 se reconocen seis diferentes etiologías de las epilepsias: estructural, genética, infecciosa, metabólica, inmune y de causa desconocida⁹ (**figura 2**).

Figura 1. Clasificación de tipo de crisis epilépticas (modificado Fischer *et al*, 2017¹⁰)

Desafortunadamente, a día de hoy no existe una clasificación fundamentada en bases genéticas, aunque siempre se ha considerado este factor como fundamental. De hecho, en 2009, en el XXVIII Congreso de la ILAE se propuso dividir las epilepsias en dos tipos: aquellas de origen genético frente aquellas con pobre componente genético. Se antoja muy necesario que en los próximos años las nuevas clasificaciones recojan las evidencias genéticas implicadas en la génesis y desarrollo del mecanismo epiléptico¹².

Figura 2. Clasificación de tipos de epilepsia (modificado de Scheffer et al 2017⁹)

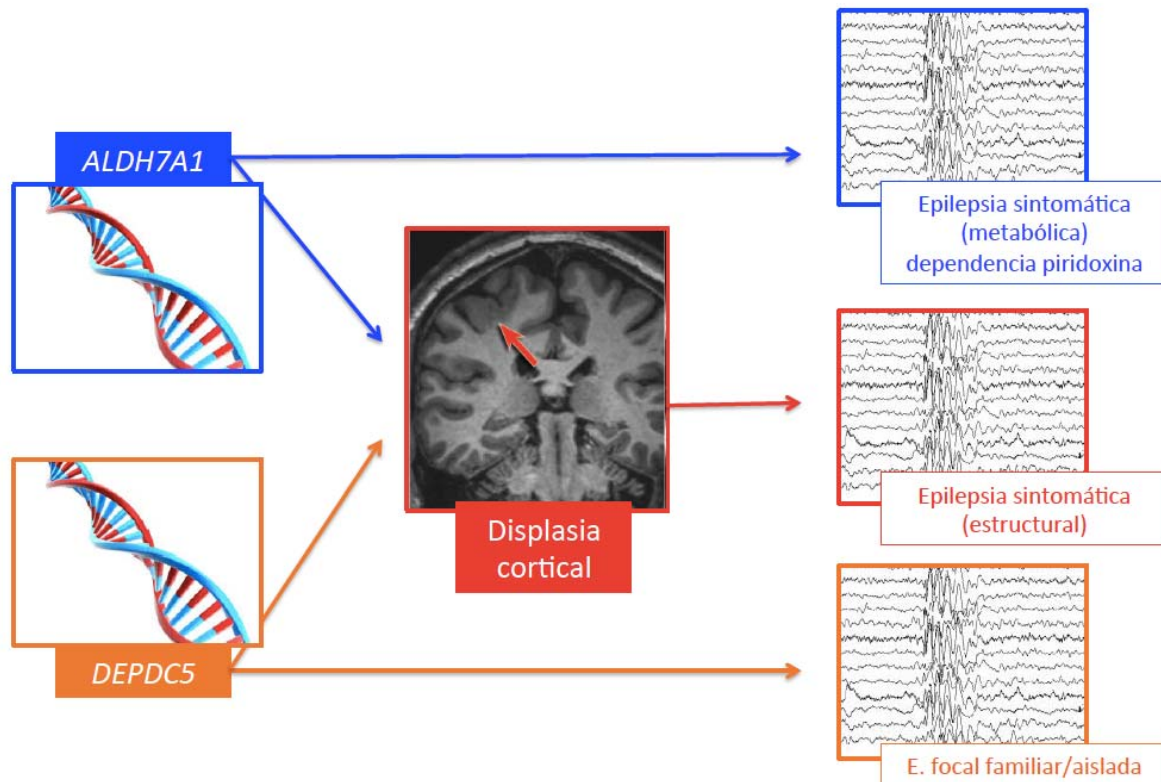
La distinción clásica de epilepsias de etiología sintomática o genética cada vez se considera más artificial, puesto que con mayor frecuencia es posible presentar diferentes etiologías: alteraciones genéticas, enfermedades metabólicas y/o trastornos congénitos del desarrollo cerebral (**figura 3**). Recientemente se ha descrito que variantes patogénicas en el gen *SCN1A* (relacionado con el síndrome de Dravet) producen malformaciones del desarrollo cortical (MDC) en un 3,5% de los casos¹³. De hecho, las MDC, que representan el prototipo de causas estructurales de epilepsia y de trastornos en el neurodesarrollo, tienen su origen en alteraciones en genes que codifican proteínas involucradas en el desarrollo del córtex cerebral (proliferación, diferenciación, migración neuronal y organización cortical). El número de genes implicados en el desarrollo cerebral que dan lugar a MDC es cada vez mayor, desde las más graves como la lisencefalia (defectos en *LIS1*, *ARX*, *RELN*, *TUBA1A*,

KIF2a, *VLDLR*, entre otros), la heterotopia en banda o la doble corteza (defectos en *DCX*, *LIS1*, *TUBA1A* entre otros) a cuadros de menor gravedad como la heterotopia nodular periventricular (defectos en *FLNA*, *ARFGEF2*), la polimicrogiria (alteraciones en *GRIN2B*, *GPR56*, *WDR62*, *PIK3R2*, *RTTN* entre otros) o las displasias corticales focales (defectos en *DEPDC5* o *PCDH19*). Así, en 2016 se habían descrito más de 100 genes causales de MDC, esperándose que este número aumente de manera ostensible ya que se sospecha que un número importante de MDC podrían estar causadas por mosaicismos somáticos, los cuales en el momento actual se encuentran probablemente infradiagnosticados¹⁴. Por otra parte, muchos de los errores congénitos del metabolismo (ECM) con base genética conocida cursan con epilepsia como por ejemplo: la epilepsia dependiente de piridoxina (defectos en *ALDH7A1*), la epilepsia dependiente de piridoxal-5-fosfato (defectos en *PNPO*), déficit de creatina cerebral (defectos en *AGAT*, *GAMT*) o el déficit del transportador de glucosa cerebral (alteración en *SLC2A1*) entre otros¹⁵.

En definitiva, se considera que hay tres escenarios donde los hallazgos genéticos se relacionan con patología:

- Epilepsias genéticas: enfermedades genéticas en las que el defecto en un gen concreto es el responsable de la epilepsia, siendo éste el fenotipo predominante, como por ejemplo el síndrome de Dravet.
- Genes relacionados con alteraciones estructurales-metabólicas: enfermedades genéticas en las que existe una anomalía interpuesta (malformación cerebral o metabólica) entre la causa genética y la manifestación epiléptica. Como ejemplo de este grupo destaca el complejo esclerosis tuberosa.
- Genes relacionados con epilepsia (epilepsia sindrómica): enfermedad genética en la que la epilepsia es uno más de los síntomas que definen el fenotipo, ya que existen disfunciones a otros niveles incluyendo la participación sistémica, como en los casos de síndrome de Angelman o de síndrome de Down¹⁶.

Figura 3. Ejemplo del solapamiento de causas genéticas-estructurales-metabólicas. Variantes patogénicas tanto del gen *DEPDC5* (implicado en el desarrollo de epilepsias focales aisladas y familiares) así como en el gen *ALDH7A1* (causante de epilepsia dependiente de piridoxina) están relacionados con el correcto desarrollo cerebral; de forma que alteraciones en dichos genes son causa también de MDC¹³.



2.1.4. Repercusión

La ILAE en el 2015 definió la epilepsia como “*una enfermedad global con consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales*”¹⁷. Todas estas comorbilidades médicas, que en la mayoría de las ocasiones son más limitantes que las propias crisis epilépticas, se explican por los cambios electrofisiológicos de la epilepsia, la enfermedad neurológica subyacente, los efectos secundarios de la medicación y la estigmatización social. Por tanto,

el tratamiento de la epilepsia debe ser multidisciplinar teniendo en cuenta los distintos aspectos de la vida del paciente con epilepsia¹⁸.

- **Consecuencias orgánicas y en el neurodesarrollo**

Son muchos los trastornos que presentan una relación bidireccional con la epilepsia. Esto puede ser porque comparten una base fisiopatológica común como puede ser la hiperexcitabilidad neuronal que explica el mayor porcentaje de migraña en personas con epilepsia (8-23%), por compartir una misma base genética como en los trastornos del espectro autista (10 veces más frecuente en población con epilepsia)¹⁹ o por una combinación de varios factores terapéuticos (efectos secundarios de tratamientos antiepilépticos) y neurobiológicos que explica la mayor prevalencia de trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) (12-35%) entre los niños con epilepsia.

Vieco et al²⁰ desarrollaron una investigación, en la que participó nuestro grupo, donde se realizaron valoraciones neuropsicológicas a niños con epilepsia generalizada idiopática (53% con epilepsia tipo ausencias infantiles) encontrando una alteración de las funciones ejecutivas en el 90% de los casos, lo que aparte de las consecuencias académicas condicionaba una afectación emocional y de la calidad de vida. Las funciones cognitivas y de aprendizaje se encuentran afectadas especialmente en pacientes que presentan epilepsias refractarias (hasta en el 70-80%). Pero esto no ocurre sólo en las epilepsias de difícil control. Un estudio realizado en 102 niños de la Comunidad Autónoma de Madrid con epilepsias anteriormente denominadas “benignas de la infancia”, evidenció que el 50% presentaba un mal rendimiento escolar, y más del 30% presentaba síntomas de inatención e impulsividad²¹.

Otros aspectos a considerar en personas con epilepsia son la mayor tasa de mortalidad (2,3 veces más frecuente) y otros problemas de aprendizaje como la disgrafía, los trastornos adaptativos o de coordinación, así como otros problemas médicos como son la mayor frecuencia de accidentes, trastornos de sueño o alteraciones gastrointestinales.

- **Consecuencias psiquiátricas**

Se ha documentado una mayor frecuencia de diferentes trastornos psiquiátricos en sujetos con epilepsia tales como depresión (20-54%), ansiedad (11-65%) y trastornos psicóticos (9%). Asimismo, existe una probabilidad aumentada (x 6-12) de intentos autolíticos. En niños con epilepsia se estima que hasta un 37% presentan algún trastorno psiquiátrico: depresión en 12-23% y ansiedad en 15-20%²². Este porcentaje pudiera ser mayor ya que se piensa que esta comorbilidad psiquiátrica en la infancia se encuentra claramente infradiagnosticada.

- **Consecuencias sociales**

Un estudio realizado en 220 adolescentes europeos demostró que un tercio de ellos ocultaban que tenían epilepsia a su entorno. La fuerte estigmatización de esta enfermedad también se refleja en nuestro país en aspectos como una mayor tasa de desempleo (40%), menor probabilidad de contraer matrimonio (56%) y una menor práctica de actividades deportivas (30%)²³.

- **Impacto en calidad de vida**

El padecer epilepsia supone un deterioro de la calidad de vida de los pacientes y sus familiares. Así, la epilepsia en un niño provoca en sus padres importantes efectos emocionales, psicológicos, sociales y médicos²⁴⁻²⁵. Un reciente estudio realizado por nuestro grupo de trabajo para valorar la calidad de sueño en 110 padres de niños con epilepsia evidenció que el 63,2% dormían “peor” desde el inicio de la epilepsia de su hijo independientemente de la gravedad de la misma y presentaban altos índices de colecho (46,1%)²⁶.

- **Implicaciones económicas**

Los recursos económicos destinados al tratamiento de la epilepsia son cuantiosos. Así, en España en 1998 se dedicó el 0,55% del presupuesto anual de sanidad al tratamiento de la misma. Con posterioridad al año 2000, varios estudios en nuestro país han estimado que el coste anual es de 1.055€ por paciente (2.193€ anuales en pacientes candidatos de cirugía de epilepsia y 5.254€ anuales en aquellos con epilepsias

fármaco-resistentes). Además, habría que sumar los costes indirectos (pérdida de productividad y cuidadores) que suponen aproximadamente 1.528€ anuales por paciente²⁷.

2.2. GENERALIDADES DE LA GENÉTICA

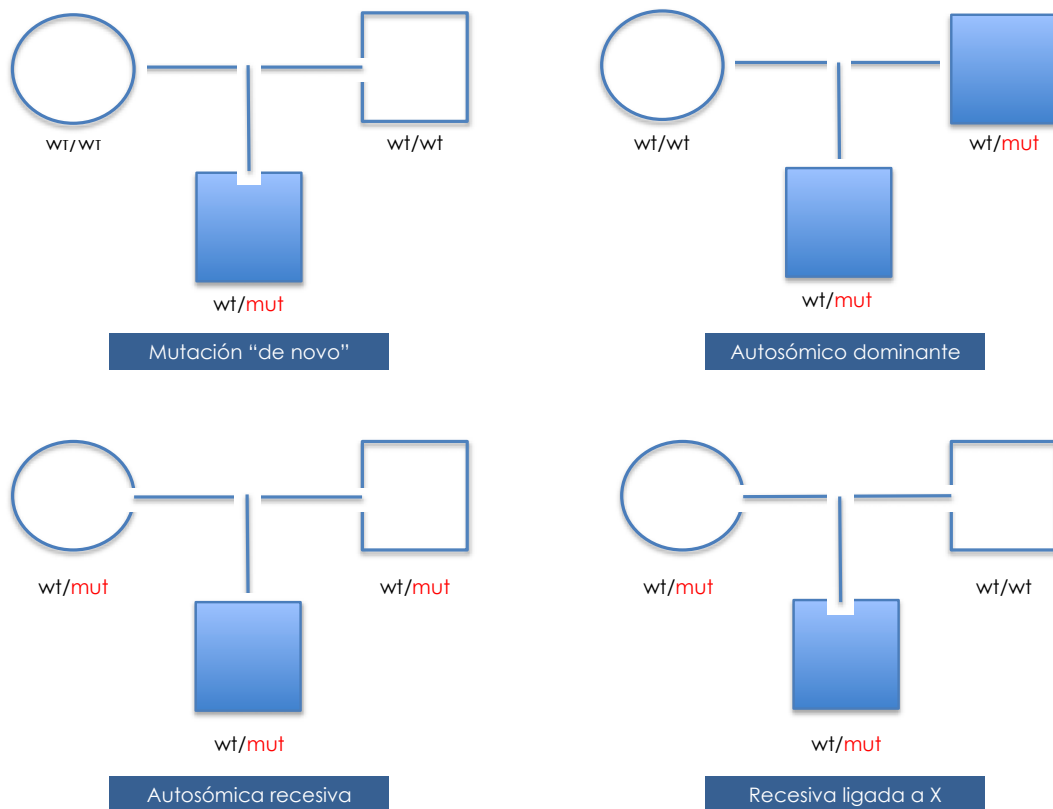
2.2.1. Alteraciones genéticas como causa de enfermedad

La mayoría de las enfermedades de causa genética están producidas por alteraciones localizadas generalmente en las regiones codificantes (o en las intrónicas adyacentes) de determinados genes, lo que produce una alteración de la proteína, que ve modificada su función y, como consecuencia, favorece la aparición de un fenotipo patológico. El diagnóstico genético se centra en la localización de dichas variantes en genes que se asocian con diferentes enfermedades²⁸.

En los últimos años y, fundamentalmente gracias al enorme desarrollo tecnológico, estamos asistiendo a un auge de la genética médica, que nos está permitiendo conocer el componente genético de muchas enfermedades²⁹. Pero al mismo tiempo, toda esta ingente información disponible contrasta con la dificultad para poder interpretarla. En general, se considera que para poder determinar la patogenicidad de una variante genética deben tenerse en cuenta cinco dimensiones independientes:

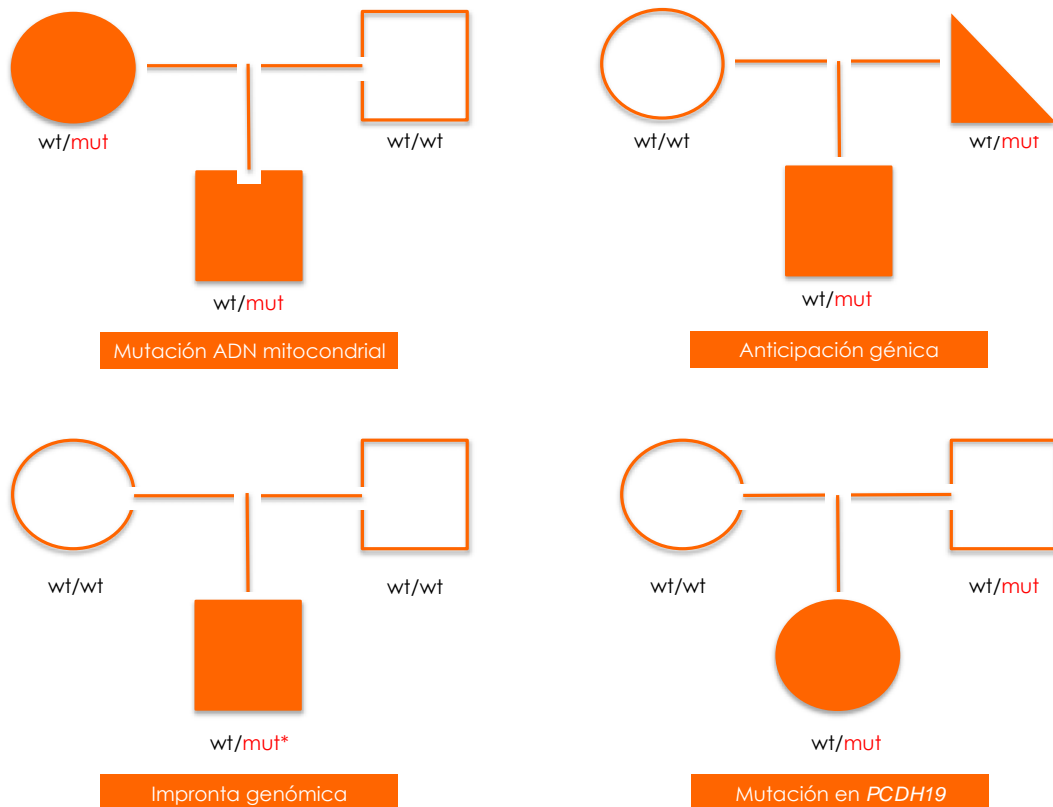
1. **Tamaño:** las alteraciones genéticas varían en tamaño, desde un cambio de un único nucleótido hasta pérdidas de cromosomas enteros. Aunque no es necesariamente proporcional, cuanto mayor es el tamaño de una pérdida, más probabilidades tiene de que sea patogénica.
2. **Frecuencia:** en general hay una relación inversa entre la frecuencia con la que nos encontramos una variación genética en una determinada población y la magnitud de su efecto.

3. **Patrón de herencia:** en muchas ocasiones las variantes genéticas son consideradas "*de novo*", es decir que la mutación está presente en el paciente pero ninguno de los progenitores la padece. En este caso concreto, son consideradas como mutaciones dominantes por el riesgo de transmisión. En otras ocasiones las enfermedades son familiares, en cuyo caso la manera de transmitirse es muy variable (**figura 4 y 5**). Existen las formas de herencia mendeliana más clásicas: **a)** herencia autosómico dominante: un único alelo alterado es suficiente para que se produzca la enfermedad, como ocurre en la epilepsia familiar benigna neonatal/lactante; **b)** herencia autosómica recesiva: es necesario que existan mutaciones en ambos alelos para que la enfermedad se manifieste, como en las epilepsias mioclónicas progresivas o en determinadas epilepsias de origen metabólico; **c)** herencia recesiva ligada al cromosoma X: en estas situaciones las mujeres son portadoras (asintomáticas o paucisintomáticas) y los varones afectados, como ocurre en las epilepsias secundarias a mutación en *ARX*. También existen otros tipos de transmisión no mendeliana: **a)** mutaciones en el ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial: herencia materna exclusivamente; **b)** las enfermedades que presentan fenómeno de anticipación génica por expansión de tripletes: cada generación presenta la sintomatología a menor edad y de forma más grave; **c)** fenómenos de impronta genómica: algunos genes de forma habitual se expresan según su origen sea materno o paterno. Como ejemplo paradigmático tenemos el síndrome de Angelman (alteración en el brazo largo del cromosoma 15 de origen materno) y el síndrome de Prader-Willi (alteración del brazo largo del cromosoma 15 de origen paterno). Existen otras situaciones muy concretas como ocurre; **d)** en la epilepsia secundaria a mutaciones en *PCDH19* donde el padre es portador asintomático mientras que las hijas son las afectas; de forma que sólo padecerán la epilepsia aquellas mujeres heterocigotas o los varones con mosaicismo para este gen³⁰.

Figura 4. Formas de herencia “clásicas”

Wt: wild type; **mut:** mutado

En el caso de las epilepsias, lo más frecuente es encontrar pacientes con formas esporádicas o que no se ajustan a ningún patrón clásico de heredabilidad. Se cree que esto se debe a que, a diferencia de las epilepsias familiares con herencia mendeliana en las que encontramos la influencia predominante de un gen, en la mayoría de las epilepsias nos encontraríamos con un patrón de herencia complejo en el que la excitabilidad neuronal sería el resultado de la combinación de muchos factores genéticos y ambientales. Podría reflejar la diferencia entre epilepsias “clásicas” monogénicas (la mutación de un gen es lo suficientemente importante como para provocar la epilepsia) y las poligénicas (la variante en un único gen no es suficiente para desarrollar la epilepsia, sino que solo explica una susceptibilidad a presentarla). Este es el patrón de herencia que se supone en algunos de los tipos de epilepsia más frecuentes como las epilepsias generalizadas idiopáticas o las epilepsias “benignas” de la infancia^{16,24}.

Figura 5. Formas de herencia “no clásicas”

wt: wild type; mut: mutado

* si el alelo mutado proviene de herencia materna provocará un síndrome de Prader-Willi, si el alelo mutado proviene de herencia paterna producirá un síndrome de Angelman

- Penetrancia:** no todos los individuos portadores de una misma mutación desarrollarán la enfermedad; la diferente probabilidad de desarrollarla se denomina penetrancia. De forma que una penetrancia del 100% supone que todos los individuos desarrollarán el trastorno mientras que una penetrancia del 20% implicará que sólo uno de cada cinco será afecto. Existen epilepsias genéticas con gran penetrancia como es el caso de las variantes patogénicas en *SCN1A* de hasta del 70%³¹.
- Expresividad variable:** dentro de las enfermedades monogénicas, principalmente en aquellas que presentan un patrón de herencia autosómico dominante, existe una alta variabilidad fenotípica en personas que comparten una misma mutación patogénica.

Esto es especialmente evidente en diferentes epilepsias genéticas, como por ejemplo las alteraciones provocadas por mutaciones en el gen *CNSKR2* que se manifiestan de manera diferente entre los miembros de una misma familia en forma de una combinación de síntomas que incluyen discapacidad intelectual (DI), trastornos del lenguaje o epilepsias con un rango variable entre focal, generalizada e incluso con un patrón de punta onda continua durante el sueño³². Una de las posibles explicaciones a esta variabilidad son los distintos grados de mosaicismo, entendido como la presencia de dos o más poblaciones celulares con diferente composición genética en un mismo organismo. Algunos mosaicismos somáticos, presentes únicamente en tejidos neuroectodérmicos explican muchas malformaciones del sistema nervioso central como la recientemente descrita del gen *GNAQ* relacionado con síndrome de Sturge Weber³³. Otros factores que pueden influir en esta expresividad variable incluyen la presencia de genes modificadores (como las variantes en *SCN9A* o *CACNA1A* que modifican la expresividad del síndrome de Dravet), factores ambientales o epigenéticos³⁴.

2.2.2 Métodos diagnósticos en genética

A. Técnicas estructurales-cromosómicas.

- **Cariotipo (citogenética convencional)**

Mediante esta técnica se analizan las estructuras cromosómicas gracias a los diferentes patrones de bandas revelados tras tinción. Desde el inicio de las técnicas citogenéticas en la década de 1950 que permitían la identificación de alteraciones cromosómicas (afectando tanto al número de juegos cromosómicos como al número de cromosomas individualmente) se ha avanzado sustancialmente, siendo posible actualmente la detección de cambios con una resolución de hasta 5Mb gracias a la mejora de los métodos de tinción y los cariotipos de alta resolución. De esta manera, con esta técnica se sigue identificando la etiología genética de hasta un 3% de los trastornos congénitos del neurodesarrollo³⁵.

- **Hibridación por fluorescencia *in situ* (FISH, del inglés *Fluorescence In Situ Hybridization*)**

Esta técnica fue desarrollada a finales de la década de 1980³⁶ mediante la cual determinadas secuencias específicas de ADN son hibridadas con sondas que emiten fluorescencia lo que permite la visualización de las anomalías cromosómicas que puedan presentar. Aunque aumenta la resolución del cariotipo, permitiendo la identificación de todo tipo de variantes en el número de copias, sólo permite detectar regiones específicas. Por tanto, su uso irá destinado al estudio de determinados genes.

- **Amplificación de múltiples sondas dependientes de ligación (MLPA del inglés *Multiplex Ligation Probe Amplification*)**

El MLPA permite el análisis de variantes del número de copias en varias regiones de manera simultánea (40-50 regiones) a partir de sondas específicas que hibridan y ligan en la región que se quiere analizar.

- **Hibridación genómica comparativa (CGH del inglés *Comparative Genomic Hybridization*).**

Es una de las técnicas que más ha revolucionado los estudios genéticos, consistente en una hibridación competitiva de dos ADNs marcados con diferentes fluoróforos (muestra problema y referencia en una proporción 1:1) y posterior hibridación. A continuación se detectan las señales de cada fluoróforo identificándose las regiones con ganancias (duplicaciones) o pérdidas (deleciones) de la muestra problema. Por tanto, esta técnica permite la identificación de variaciones en el número de copias (CNVs), las cuales se definen como aquellos segmentos de ADN igual o mayor de 1 kb cuyo número de copias es diferente (deleciones o duplicaciones) al compararlo con un genoma de referencia. Aparte de estar relacionadas con diferentes patologías (como causantes o como factor de susceptibilidad) también se presentan en personas sanas y contribuyen a la variación genética humana interindividual.

Con la introducción de esta técnica se ha podido aumentar la probabilidad de identificar variaciones en el número de copias (x10-100 veces más que el cariotipo convencional)³⁷.

De hecho, desde 2010 se recomienda la realización de el array CGH como la técnica genética de elección ante pacientes con anomalías múltiples no definidas por un síndrome específico, retraso global del desarrollo/DI o trastorno del espectro autista (TEA) ya que permiten la identificación de alteraciones genéticas en un 12-20% de los casos respecto al 2-4% obtenido con otras técnicas citogenéticas clásicas como FISH o cariotipo³⁸.

La identificación de una CNV como patogénica se sustenta en si es una delección o duplicación, en su tamaño, si es de *novus* y de si incluye algún gen relacionado con la enfermedad del paciente. Evidentemente, aquellas CNVs de significado incierto deben ser comparadas con los resultados de bases internacionales con el objetivo de aclarar si se trata o no de variantes poblacionales³⁹.

B. Técnicas de secuenciación genómica

La secuenciación genómica tiene la finalidad de determinar el orden de nucleótidos (secuencia) de los genes lo que permite la detección de alteraciones o variaciones puntuales.

- **Técnica de secuenciación Sanger**

En 1977 Sanger⁴⁰ diseñó un método de secuenciación de ADN mediante la incorporación de dideoxinucleótidos, que se ha convertido en la técnica principal para leer y descifrar fragmentos de ADN. A día de hoy se sigue usando en casos de fenotipos muy definidos (alteraciones en *SCN1A* en el síndrome de Dravet o en *SLC2A1* ante sospecha de deficiencia en el transportador de glucosa cerebral) y como técnica "*gold standard*" para validar los resultados obtenidos por secuenciación masiva.

- **Técnicas de secuenciación masiva o secuenciación de nueva generación (NGS, del inglés *Next Generation Sequencing*)**

La secuenciación de nueva generación permite el análisis simultáneo de diferentes secuencias de ADN. A diferencia de la secuenciación Sanger en donde solo se puede analizar una secuencia determinada, con NGS es posible la obtención y análisis de múltiples fragmentos de ADN y en distintas localizaciones (secuenciación masiva y paralela). El menor

tiempo en obtener resultados, así como el abaratamiento de los costes hace que sea una técnica que está sustituyendo a las técnicas de secuenciación previas. La secuenciación masiva comprende⁴¹:

- *Paneles de genes*: secuenciación de determinados genes que se asocian con fenotipos determinados. En una de las primeras patologías neurológicas donde se usaron fue en los defectos congénitos de la glicosilación, donde se obtuvo una rentabilidad diagnóstica del 14,8% .
- *Secuenciación exómica*: secuenciación de exones (regiones codificantes). A su vez, se puede dividir en: **a)** exoma clínico (4.813 genes): secuenciación de los exones de genes relacionados con patología recogida en OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man database*; www.omim.org); **b)** exoma completo (WES: *whole exome sequencing*, 22.000 genes). Aunque suponen un mayor coste, aportan la ventaja de poder ser reinterpretados analizando genes que se descubran posteriormente relacionados con el trastorno a estudiar (algo relativamente frecuente en el estudio de alteraciones genéticas en las epilepsias).
- *Secuenciación genómica* (WGS: *whole-genome sequencing*): secuenciación tanto de la región codificante como de la región intrónica, lo que supone aproximadamente 3,3 billones de pares de bases²⁸.

La secuenciación masiva permite la identificación de variantes patogénicas, que son cambios en la secuencia codificante o no codificante (zonas de *splicing*, zonas de unión de factores de transcripción...) de un gen creando una transcripción incorrecta de la molécula del ácido ribonucleico (ARN) y a su vez generando una proteína no funcional o alterada. Estas variantes patogénicas pueden ser de varios tipos: **a)** *missense* ("perdida de sentido"): en esta situación se objetiva un cambio en una de las bases del ADN, de forma que el triplete de nucleóticos codifica un aminoácido diferente del que debería, afectando a la funcionalidad de la proteína; **b)** *nonsense* ("sin sentido"): existe un cambio en una de las bases del ADN, de forma que el nuevo triplete que se forma da lugar a la aparición de

un codón de terminación de síntesis y produciendo una proteína truncada con alteración total o parcial de su funcionalidad; **c)** *frameshift* ("cambio del marco de lectura"): inserción o pérdida de una/s base/s cambiando la forma de agrupar los tripletes y alterando la secuencia del ADN. De esta forma existe la posibilidad de aparición de un triplete de terminación prematuro y síntesis de una proteína truncada.

Las técnicas de NGS son especialmente útiles en patologías con gran heterogeneidad genética (como ocurre en la mayoría de las epilepsias), en las cuales la secuenciación "gen a gen" no es útil ni rentable. Otras ventajas de este tipo de tecnologías son la posibilidad de identificar mosaicismos parentales, y ampliar los fenotipos y genotipos asociados a una determinada enfermedad⁴²⁻⁴³. La utilización de NGS está proporcionando una gran cantidad de información que, en ocasiones, es difícil interpretar. En esta línea, es necesario plantear una estrecha coordinación entre los genetistas y el personal clínico para poder interpretar el significado de las variantes encontradas según su patogenicidad: patogénicas, probablemente patogénicas, variantes de significado incierto (VUS, del inglés *Variants of Unknown Significance*) o benignas. Para ello se tendrán en cuenta diversas variables: el tipo de variante, los cambios producidos en la proteína, las predicciones funcionales (análisis *in silico*, mediante herramientas bioinformáticas de interpretación de variantes genéticas), la comparación con bases poblacionales, si son de *novo* (estudios de segregación), si son variantes que explican el fenotipo o *hotspots* entre otros⁴³⁻⁴⁴. En los laboratorios de investigación se realizan análisis funcionales, tanto en modelos animales (por ejemplo en ratones o peces cebra) como en células madre, que permiten conocer los cambios funcionales y fisiopatológicos que provocan una determinada alteración genética⁴⁵.

Actualmente disponemos de muchas técnicas genéticas para evaluar enfermedades como la epilepsia. No obstante, no hay una sola tecnología que sea rentable para identificar todos los posibles mecanismos genéticos implicados. De esa manera, muchas veces tendremos que complementar estudios de secuenciación con técnicas de MLPA o array

CGH para detectar CNV, e incluso a pesar de su gran poder de resolución esta última técnica no será útil para detectar translocaciones balanceadas, para lo cual ,seguirá siendo útil el cariotipo convencional⁴⁶.

2.3. GENÉTICA DE LAS EPILEPSIAS

2.3.1 Recuerdo histórico de la epilepsia como enfermedad genética

Distinguimos 4 etapas en la historia de la genética en las epilepsias (figura 6):

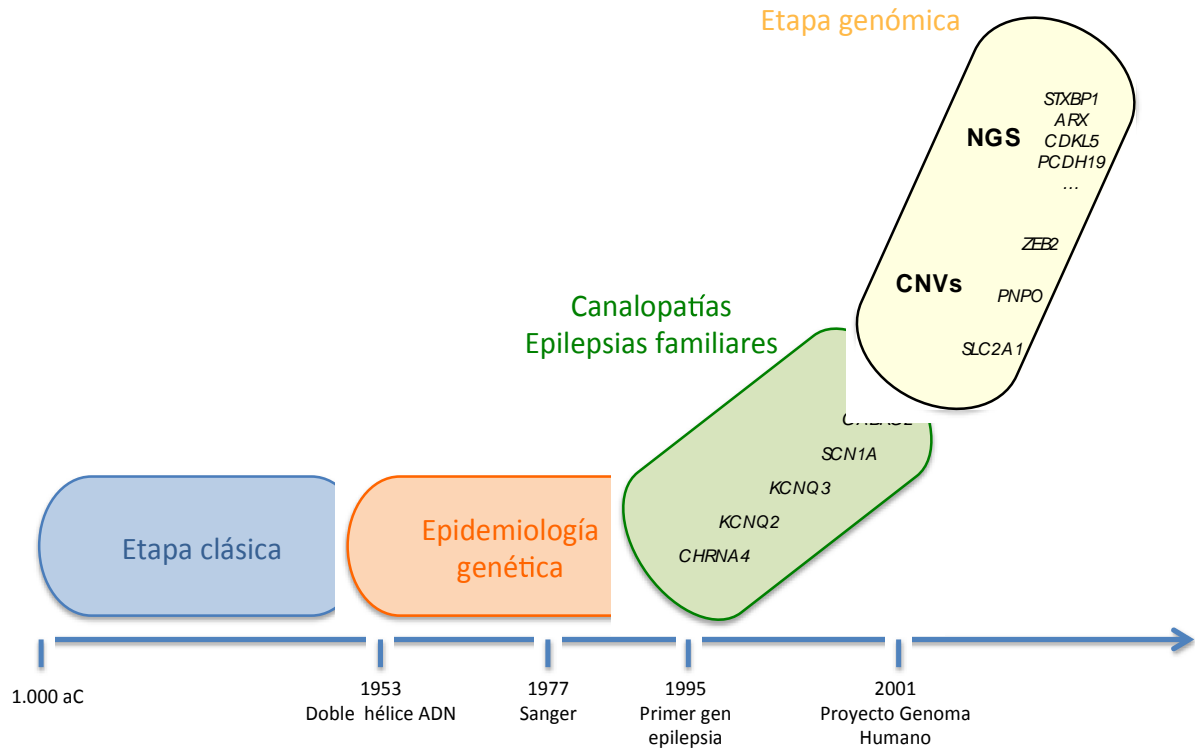
- **Etapla clásica**

Debido al componente convulsivo de muchas de las crisis convulsivas, la epilepsia es una de las enfermedades que más estigma social ha soportado a lo largo de la historia habiendo sido catalogada por diferentes culturas como una enfermedad “vergonzante” o “diabólica”. Desde las primeras descripciones de la enfermedad hace 3.000 años se había observado que las personas que sufrían epilepsia tenían más probabilidades de tener familiares con crisis lo que acarreó que en muchas de las civilizaciones clásicas como es el caso de la egipcia, no se permitiera a estos pacientes casarse o fueran obligados a esterilizaciones forzosas. Ya en Babilonia, en el Código de Hammurabil en el 1.750 a.C. se recogía que *“se prohibía a los epilépticos casarse y declarar en juicios”*. No es hasta el esplendor de la cultura helenística en el 400 a.C. cuando Hipócrates en su libro “Sobre la Enfermedad Sagrada” intenta desmitificar las supuestas causas sobrenaturales de la enfermedad y apunta al componente genético de la misma: *“El origen de esta enfermedad es hereditario, como el de muchas otras (...) ¿Qué impediría que si el padre o la madre lo sufren, alguno de sus hijos también lo padecieran?”*.

Tuvieron que pasar muchos siglos de estigmatización, hasta que en 1770 Samuel Tissot en su libro “Tratado de la Epilepsia” apuntara que la presencia de epilepsia depende de una predisposición genética. Afirmaba: *“existen diversos factores hereditarios que resultan en*

*una mayor predisposición a padecer ataques epilépticos"*⁴⁷.

Figura 6. Historia de la genética de las epilepsias (modificado de Helbig 2016³¹)



CNVs: variantes en el número de copias; **NGS:** técnicas de secuenciación masiva

▪ Etapa de Epidemiología Genética

A partir de 1940 distintos estudios de agregación familiar y de concordancia en gemelos (evidenciaban que el porcentaje de que una pareja de gemelos monocigóticos presentara epilepsia era mayor que el de una pareja de gemelos dicigóticos) demostraron una fuerte contribución de la genética en determinadas epilepsias y describieron riesgos estimados que, aún hoy en día, son válidos en consejo genético.

Todo esto hizo que a mediados el siglo XX, Lennox afirmara que *"la transmisión de una predisposición a tener crisis epilépticas es un hecho"*⁴⁸.

▪ Etapa de Genética Molecular

Tras el descubrimiento en 1953 del modelo de doble hélice por Watson y Crick⁴⁹ y la posterior asociación de una mutación en el ADN como causa de enfermedades se generó la disciplina de Genética Molecular Humana. A partir de la tecnología de genes recombinantes en la década de 1980 y en conjunción con los estudios de ligamiento se identificaron múltiples genes relacionados con distintas enfermedades. En 1977 Fred Sanger y colaboradores⁴⁰ publicaron dos artículos en los que describían el método de secuenciación del ADN que revolucionó la genética desde ese momento y que sigue siendo en muchos casos la técnica de referencia.

No fue hasta 1995 cuando el grupo de Steinlen descubrió el primer gen relacionado con una epilepsia: el gen *CHRNA4* que codifica la subunidad α -4 del receptor nicotínico de la acetilcolina neuronal. Dicho gen se encontraba alterado en varios miembros de una numerosa familia australiana con epilepsia hipermotora del sueño (anteriormente denominada epilepsia frontal autosómico dominante)⁵⁰. Desde ese momento, los estudios de ligamiento y de asociación identificaron numerosos genes relacionados con epilepsias familiares (*KCNQ2* y *KCNQ3*)⁵¹ o en epilepsias neonatales familiares benignas (primera canalopatía humana relacionada con epilepsia en 1998) o el gen que codifica la cistatina-B en la epilepsia mioclónica progresiva Unverricht-Lundborg⁵². El primer gen que se comenzó a estudiar en pacientes sin antecedentes familiares fue el *SCN1A* a partir de 2001 en el síndrome de Dravet⁵³. Sin embargo, las epilepsias comunes raramente siguen las reglas de la herencia mendeliana sino más bien parecen comportarse según un patrón hereditario complejo. Ese fue uno de los principales motivos por los que durante casi una década la mayoría de los estudios de genes candidatos fueron infructuosos, especialmente en las epilepsias generalizadas idiopáticas donde se presuponía una mayor carga genética.

▪ Etapa genómica.

Tras la secuenciación completa del primer genoma humano en 2001 se hizo patente la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías de secuenciación más eficientes (secuenciación en paralelo) y con menor coste. De esta forma, surgieron las primeras

plataformas NGS. El Proyecto del Genoma Humano con el cual se obtuvo la secuenciación completa del genoma de un ser humano supuso un coste de 3.000 millones de dólares y se tardaron 13 años en su finalización. Actualmente, es posible realizar la secuenciación del exoma en varias semanas y con un coste aproximado de 1.000 euros/exoma. Este abaratamiento de costes y tiempo ha permitido la implementación de estas técnicas de secuenciación en la clínica habitual⁵⁴.

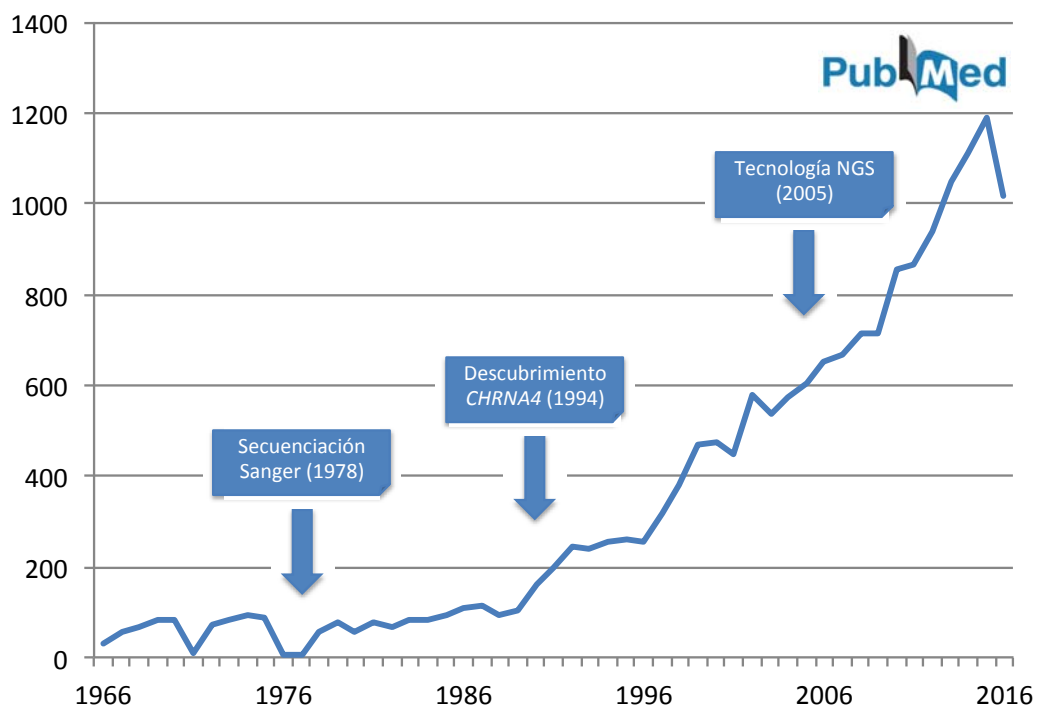
Con la irrupción de la secuenciación exómica y el desarrollo de otras pruebas que permiten la identificación de deleciones y duplicaciones como el array CGH/MLPA (detecta hasta el 5-10% de la causa genética de las epilepsias infantiles) se han identificado una gran cantidad de genes responsables de epilepsias monogénicas como las encefalopatías epilépticas o algunas epilepsias focales familiares graves⁵⁵. Esto ha permitido ampliar nuestros conocimientos sobre los mecanismos fisiopatogénicos de las epilepsias identificando una gran variedad de genes causales de epilepsias que explican también algunas MDC así como otros trastornos cognitivos y psiquiátricos⁵⁶. Toda esta revolución en el diagnóstico genético de la epilepsias se ve reflejada en el aumento exponencial de artículos científicos que abordan la etiología genética de las epilepsias (Figura 7).

En 2012 en un artículo de revisión³⁰ sobre epilepsias de causa genética se identificaban 8 genes relacionados con epilepsias graves (*ARX*, *CDKL5*, *SLC25A22*, *STXBP1*, *SPTAN1*, *SCN1A*, *PCDH19* y el actualmente cuestionado *SRPX2*). Los autores concluían “*que en la mayoría de las encefalopatías epilépticas, las causas genéticas son muy raras*”. Cinco años después (en 2017) se han descrito más de 500 genes causantes de las epilepsias.

Como se ha mencionado anteriormente, los primeros genes descritos se relacionaban con canales iónicos (ejemplos: *CHRNA4*, *SCN1A*, *SCN2A*, *KCNQ2*, *HCN1*, entre otros). Actualmente, se conocen genes que codifican proteínas que se relacionan con diferentes mecanismos de epileptogénesis como son: la regulación de vesículas sinápticas (*DNM1*, *NECAP1*, *STX1B*), la regulación de la transcripción inter o intra-celular (*GNAO1*, *MECP2*), la regulación de la función de los neurotransmisores (*STXBP1*, *PNPO*, *GRIN2A*, *GABRG2*), la

reparación del ADN (*PNKP*), la modificación de apoptosis neuronal (*SPTAN1*), la codificación de enzimas (*SZT2*), el desarrollo cerebral en sus distintas fases como la morfogénesis, segmentación cerebral y migración neuronal (*ARX*, *TBC1D24*, *DEPDC5*) o el despliegue y correcto funcionamiento de las espinas dendríticas (*KCND2*, *CDKL5*)⁵⁷⁻⁵⁸.

Figura 7. Artículos publicados en Pubmed. Resultados al aplicar en los criterios de búsqueda; “*epilepsy AND genetics*”



2.3.2 Dificultad en el diagnóstico genético de las epilepsias

2.3.2.1 Relación genotipo-fenotipo

En la mayoría de las epilepsias de causa genética existe una gran dificultad para establecer una correcta correlación genotipo-fenotipo debido fundamentalmente a dos aspectos:

- **Heterogeneidad fenotípica (*pleiotropía*)**

Una misma alteración genética provoca diferentes fenotipos clínicos. Un caso que ejemplifica este fenómeno se observa en uno de los primeros genes relacionados con síndromes epilépticos infantiles: el gen *SCN1A*. Alteraciones en este gen explican el 90% de los casos con síndrome de Dravet (epilepsia mioclónica grave de la infancia), que es una encefalopatía epiléptica fármaco-resistente que se manifiesta con crisis convulsivas prolongadas en relación con fiebre en el primer año de vida y, que posteriormente, a partir de los dos años desarrollan un deterioro cognitivo, conductual y motor así como un aumento en la frecuencia y diversidad de las crisis⁵⁹. El gen *SCN1A* también es causante de la epilepsia generalizada con crisis febriles plus (GEFS+) en un 10% de los casos, una epilepsia familiar autosómica dominante cuyos miembros presentan diferentes fenotipos que varían entre crisis febriles aisladas, epilepsia generalizada idiopática o incluso permanecer asintomáticos. Aunque generalmente tienen buen pronóstico, en ocasiones pueden ser fármaco-resistentes y presentar fenotipos más graves como en el caso del síndrome de Dravet³⁴. Debido a que una misma mutación puede producir desde fenotipos muy leves hasta otros de mayor gravedad, la identificación de variantes patogénicas en *SCN1A* es útil como diagnóstico, pero tiene escaso valor predictivo, situación que complica el consejo genético (sin tener en cuenta que existe un 10% de mosaicismo parental).

Desde la generalización del uso de las técnicas NGS se ha demostrado que lo habitual es encontrarse pleiotropía: como en el caso del gen *CDKL5* (cuyas variantes patogénicas se relacionan con síndrome de West, síndrome de Rett y encefalopatías hipercinéticas), *STXBP1* (cuyas alteraciones se relacionan con síndrome de Ohtahara, síndrome de West y también de fenotipos con DI sin epilepsia), *ARX* (cuyas anomalías son causa de espasmos ligados a X, lisencefalia con genitales ambiguos, epilepsia mioclónica ligada a X entre otros) o del gen *KCNT1* (donde una misma variante puede producir desde individuos asintomáticos, hasta epilepsia migratoria de la infancia, pasando por fenotipos intermedios como la epilepsia hipermotora del sueño)⁶⁰.

▪ Heterogeneidad genética

Un determinado fenotipo clínico puede ser causado por mutaciones en diferentes genes. Incluso en síndromes epilépticos estrechamente relacionados con un determinado gen, como ocurre en el síndrome de Dravet existe una alta variabilidad genética. Esta encefalopatía epiléptica se asocia en el 80-90% de las ocasiones a alteraciones en el gen *SCN1A* (40-50% variantes patogénicas *nonsense*, 40% *missense*, 2-20% deleciones, 5-10 *splice-site*, siendo raras las duplicaciones). Pero también se sabe que el 10-15% de estos pacientes (especialmente niñas) presentan afectación en la expresión del gen *PCDH19* y en los últimos años se han descrito otros genes asociados como son aquellos que codifican para otras subunidades del canal de sodio como son el *SCN1B*, *SCN2A* y *SCN8A*, así como otros genes que codifican receptores GABAérgicos como *GABRG2* y *GABRA1*, así como otros como *CHD2*, *HCN1*, *STXBP1* o *KCNA2*^{59,61}.

En otras encefalopatías epilépticas como el síndrome de West, en las que la etiología genética sólo explica un pequeño porcentaje de los casos (10%), no hay un solo gen candidato sino una gran diversidad de ellos: *CDKL5*, *STXBP1*, *ARX*, *GRIN2B*, *MAGI2*, *SLC2A1*, *KANSL1*, *GRIN2A*, *KCNQ2*, *EHMT1*, *MEF2C* y *SCN2A*⁶².

En otras epilepsias graves, aparentemente monogénicas, se describe el mismo fenómeno: encefalopatía epiléptica discinética infantil caracterizadas por presentar una epilepsia fármaco-resistente, retraso psicomotor grave y un trastorno del movimiento complejo tipo corea-mioclonía-diskinesia (causada por alteraciones en *ARX*, *MECP2*, *FOXP1*, *STXBP1*, *PNPO*, *SCN1A*, *TBC1D24*, *KCNQ2*, *SLC2A1*, *POLG1*, *PRRT2*) o en las encefalopatías epilépticas de inicio neonatal como el síndrome de Ohtahara o la epilepsia mioclónica precoz (*STXBP1*, *ARX*, *CDKL5*, *SPTAN1*, *SLC25A22*, *PLCβ1*, *MAGI2*, *PNKP*, *KCNQ2*, *SLC2A1*, *POLG1*, *SCN2A*, *SCN3A*, *SCN8A*, *AGC1*, *PNPO*, *CHD2*, *HCN1*, *PIGO*, *GRIN2A*, *TBC1D24*, *SLC25A12*, *ARHGEF9*, *KCNT1*)⁵⁷.

Esta heterogeneidad genética también se observa en epilepsias focales familiares como son las epilepsias benignas neonatales familiares (*KCNQ2* y *KCNQ3*) y la epilepsia con

fenómenos auditivos, la cual se explica en el 30-50% por mutaciones en *LG1* (fundamental para la formación de diferentes estructuras cerebrales) y en 15-20% por mutaciones en gen *RELN*⁶³.

La alta variabilidad genética de las epilepsias, que en la mayoría de los casos explican sólo un pequeño porcentaje de las mismas, implica que el resultado negativo de un estudio genético no tenga valor predictivo alguno ya que lo que probablemente se traduce es la existencia de numerosos genes implicados por descubrir.

2.3.2.2 Importancia del fenotipado

La anamnesis es fundamental para poder identificar algún signo “guía” que permita un análisis más dirigido. Son especialmente útiles en epilepsias síndrómicas, como es la presencia de sobrecrecimiento y rasgos dismórficos, característicos en el síndrome de Sotos (por alteraciones en *NSD1*) o comorbilidades tipo enfermedad de Hirschsprung y anomalías genitorurinarias en el síndrome de Mowat-Wilson (por alteraciones en *ZEB2*)⁶⁴.

La mayoría de expertos recomiendan tener en cuenta muchas otras características como son el tipo de síndrome epiléptico, los hallazgos en neuroimagen (aunque no suelen ser específicos), la presencia de dismorfias, los antecedentes familiares o la presencia de trastornos del movimiento o visuales asociados⁵⁸. Si bien el análisis genético debe ser lo más individualizado posible teniendo en cuenta el fenotipo de cada paciente debido a la heterogeneidad clínica y genética, en muchas ocasiones es difícil delimitar el estudio genético y se prefieren usar análisis simultáneos de varios genes⁶⁵.

2.3.3. Causas genéticas en epilepsia

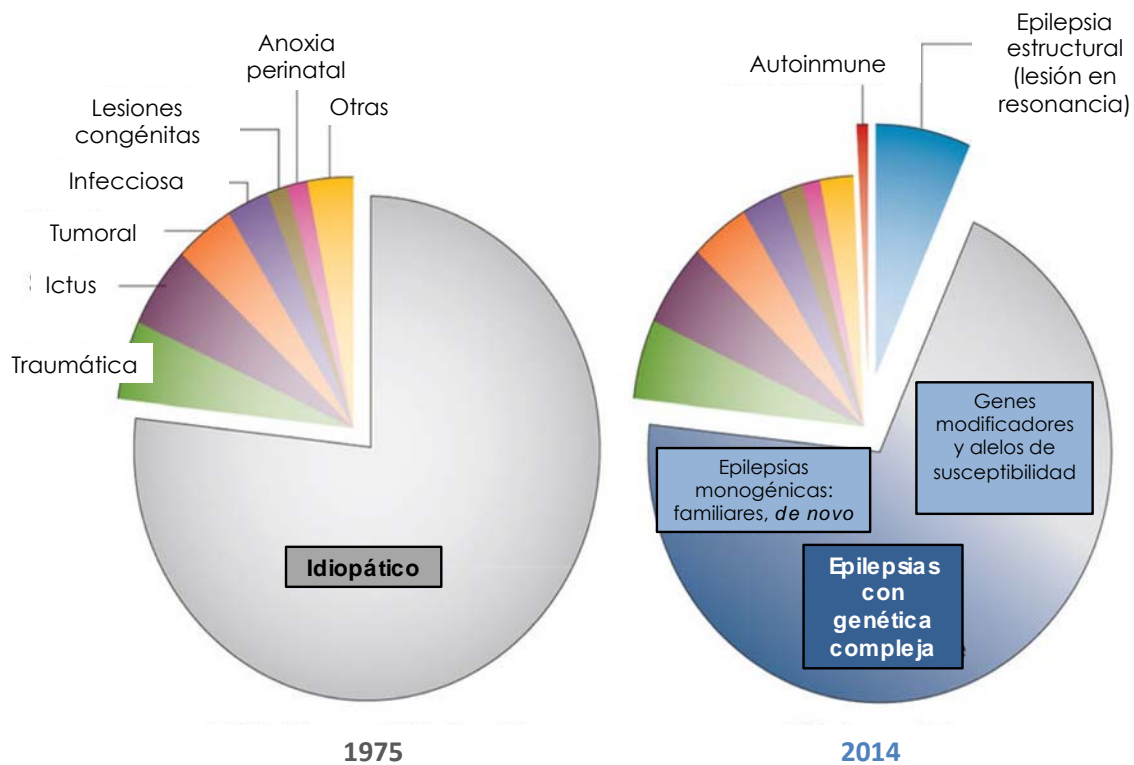
2.3.3.1 Importancia de la genética en la epilepsia

Los primeros estudios de epidemiología genética llevados a cabo a principios del siglo XX nos mostraban la importancia de la genética en la génesis de la epilepsia. Todos estos

estudios poblacionales clásicos (tanto los estudios de concordancia en gemelos como los estudios de agregación familiar) han arrojado datos que continúan siendo válidos en la actualidad para determinar el riesgo de epilepsia en familiares⁶⁶. Gracias a ellos, sabemos que el 5% de los pacientes con epilepsia tienen un familiar de primer grado epiléptico, lo que supone un riesgo de 2,5 veces mayor de padecer epilepsia. De la misma forma, sabemos que a los 40 años la incidencia acumulada de presentar una epilepsia es del 4,7% y que el riesgo de que un familiar presente crisis es mayor en pacientes con epilepsia generalizada (riesgo relativo: RR 5) que focal (RR 2,9)⁶⁷.

El grado de heredabilidad en epilepsia entendida como la parte de la variabilidad fenotípica que puede ser explicada por la genética es del 70%. Cuando Thomas y Berkovic⁶⁸ analizaron los avances en el diagnóstico de las epilepsias en los últimos 30 años, sugirieron que el desarrollo de las técnicas de neuroimagen y los estudios de autoinmunidad no habían supuesto un gran avance en el conocimiento de la etiología, de tal forma que únicamente explicaban el 12,5% de los casos. En cambio, casi el 75% de las epilepsias eran de causa genética (figura 8).

Actualmente se cree que conocemos aproximadamente el 30% de los genes responsables de las epilepsias de causa genética. Este porcentaje es algo mayor en población pediátrica. En un estudio multicéntrico realizado en EEUU en 2015⁶⁹ en 680 niños con epilepsia de inicio antes de los tres años de edad, se alcanzó un diagnóstico genético en el 40% de los casos.

Figura 8. Etiología de las epilepsias (modificado de Thomas RH, 2014⁶⁸)

2.3.3.2 Alteraciones genéticas de las encefalopatías epilépticas

Aproximadamente en el 30% de los casos la epilepsia no se logra controlar con dos fármacos antiepilépticos denominándose epilepsias fármaco-resistentes⁷⁰. El extremo más representativo lo constituyen las encefalopatías epilépticas (EEs). Las EEs se definen como aquellas epilepsias en las que la actividad epiléptica por sí misma (en forma de crisis frecuentes o actividad epileptiforme interictal) se relaciona con un estancamiento/regresión en el aprendizaje así como el desarrollo de trastornos conductuales y neurológicos⁷¹.

La etiología de estas EEs es muy variada identificándose causas estructurales, metabólicas y, genéticas. Descubrir la base genética de estos trastornos, los cuales ocasionan graves consecuencias en el neurodesarrollo (no sólo debido a las crisis) resulta clave de cara a

comprender su fisiopatología y de esta forma poder mejorar su pronóstico mediante el desarrollo de tratamientos específicos .

La relevancia de los avances genéticos en el diagnóstico de las EEs es tal, que se ha desarrollado de manera alternativa a la clasificación de la ILAE (basada en la edad de inicio y características del EEG) la *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM; www.ncbi.nlm.nih.gov/omim). En ella se clasifica a los diferentes tipos de EEs de inicio en el primer año según su gen causal. Esta lista no cesa de crecer, y en los últimos 5 años se han identificado más genes relacionados con EE de inicio infantil que los 58 que recoge esta clasificación (EIEE del inglés *Early Infantile Epileptic encephalopathy*) (Diciembre 2017)⁷²⁻⁷³.

▪ **Análisis del número de copias en encefalopatías epilépticas**

El primer artículo donde se relacionó la importancia de las CNVs en epilepsia fue un estudio de Mefford y colaboradores en 2010⁷⁴, donde en 517 pacientes con epilepsias no lesionales se detectaron 8,9% de variantes que podrían explicar el tipo de epilepsia (7,9% en las focales y 6,6% en las epilepsias generalizadas). Es el primer estudio donde se identifican diferentes genes que, aparte de causar epilepsia, producen otras patologías neurológicas como es el caso del gen *AUTS2* relacionado con DI de herencia autosómica dominante y TEA, así como el gen *CNTNAP2* también relacionado con autismo. Además se sugirió que determinadas microdeleciones (regiones 15q11.2 y 16p13.11) conferían un riesgo de desarrollo de epilepsias generalizadas. Desde entonces, varios estudios han confirmado a las CNVs como causa de EE en aproximadamente 2-8% de los casos (**Tabla I**).

Tabla I. Estudios genéticos mediante array CGH de encefalopatías epilépticas

Tipo de pacientes	N	Método	CNV patogénica	Bibliografía
Epilepsia	804	Array-CGH (244 k)	5%	<i>Olson H, 2014</i> ⁷⁵
EE inicio <1 año	51	Array-CGH*	5,9%	<i>Allen NM, 2015</i> ⁷⁶
Epilepsia FR + MC	76	Array-CGH (180k)	9,2%	<i>Wincent J, 2015</i> ⁷⁷
Epilepsia + DI	49	Array-CGH*	26,5%	<i>Wang R, 2017</i> ⁷⁸
Espasmos + SLG	349	Array-CGH*	2,9%	<i>Epi4K, 2015</i> ⁷⁹
Epilepsia infantil + DI	80	Array CGH (60k)	8,8%	<i>Fry AE, 2016</i> ⁸⁰
Síndrome West	18	Array-CGH (180k)	22%	<i>Hino-Fukuyo, 2015</i> ⁸¹
EE	315	Array-CGH (720k)	7,9%	<i>Mefford, 2017</i> ⁸²
EGI	399	Array-CGH (135 k)	6,6%	<i>Mefford HC, 2010</i> ⁸³
EFI	63	Array-CGH (135 k)	7,9%	<i>Mefford HC, 2010</i> ⁸³
EE inicio <1 año	116	Array-CGH*	3,4%	<i>Ma Y, 2016</i> ⁸⁴

*: no especificado el tipo de resolución empleada.

Array CGH: comparative genomic hybridization; **FR:** fármaco-resistente, **MDC:** malformación del desarrollo cortical; **DI:** discapacidad intelectual; **EGI:** epilepsia generalizada idiopática; **EFI:** epilepsia focal idiopática; **SLG:** síndrome de Lennox Gastaut.

Los estudios por array son especialmente rentables para lograr el diagnóstico genético en los pacientes que inician su epilepsia en el primer año de vida, como demuestra el estudio realizado por Ma y colaboradores⁸⁴ en 116 niños con EE de inicio en el periodo del lactante. En este estudio se identificaron CNVs patogénicas en 4 niños (3,4%) que contenían genes relacionados con epilepsia (como es el caso de *SCN1A*) o relacionados con conocidos *hotspots* de epilepsia (como el gen *NIPA1*, relacionado con determinados tipos de paraplejia espástica con o sin epilepsia). Pero no sólo son útiles entre los pacientes de menor edad. En este sentido, destaca el estudio desarrollado por Mefford⁷⁹ en 349 pacientes con EE tipo síndrome de Lennox-Gastaut (el cual se inicia a partir de los dos años de vida) o espasmos epilépticos donde se identificaron CNVs probablemente patogénicas en el 2,9%

de los pacientes (deleciones que contienen los genes *SCN1A*, *SCN2A*, *CNTNND2*, *MAGI2*, *GPHN*, deleción del 9p y duplicaciones en 15q11q13).

Este tipo de abordaje genético se considera especialmente útil en aquellos pacientes que asocian rasgos dismórficos, TEA o DI. En esta línea, resulta muy representativo el estudio de Olson *et al*⁷⁵ en el que se realizó un array CGH en 805 niños con epilepsia. De los 40 casos donde se identificaron CNVs patogénicas, en 29 de ellos la epilepsia formaba parte de un síndrome polimalformativo: síndrome de duplicación 22q11.2 (n=4), síndrome de deleción 1p36 (n=3), síndrome de Mowat-Wilson (n=3) (2q22, gen *ZFHX1B*) síndrome de Wolf-Hirschhorn (n=3) (4p16.3). Los otros 11 pacientes presentaban deleciones que incluían genes relacionados con epilepsia (*PLCB1*, *GABRG2*, *PRRT2*).

La presencia de malformaciones en el sistema nervioso central no excluye la posibilidad de una causa genética y, de hecho, algunos autores recomiendan un estudio genético en caso de lesiones congénitas cerebrales. En una investigación desarrollada por el grupo de Wincent en 2015⁷⁷ al estudiar a pacientes con epilepsia y MDC, encontraban que 7/76 (9,2%) de los pacientes presentaban CNVs patogénicas.

Estos estudios de CNVs también contribuyen al descubrimiento de genes (incluidos en las deleciones o duplicaciones) potencialmente patogénicos. Un claro ejemplo lo constituye la identificación en 2008⁸⁵ de una deleción *de novo* de 2 Mb en la región 9q33.3-q34.11 (que incluía el gen *STXBP1*) en una niña con síndrome de Ohtahara, concluyendo que la haploinsuficiencia de este gen podría explicar dicha patología. Actualmente se sabe que *STXBP1*, que codifica una proteína reguladora de las vesículas sinápticas, es responsable de diferentes EEs.

▪ **Análisis de gen candidato por secuenciación Sanger en EEs**

La alta heterogeneidad clínica y genética de este tipo de epilepsias hace que, actualmente, el análisis secuencial de un determinado gen no sea rentable salvo en aquellos casos donde el fenotipo clínico esté claramente asociado como es el caso del síndrome de Dravet⁸⁶. De hecho, la ILAE publicó en 2013 las recomendaciones que recogen

que, ante un paciente con sospecha de síndrome de Dravet en primer lugar se realice una secuenciación del gen *SCN1A* y, en caso de no encontrarse variantes patogénicas, completar el estudio mediante MLPA o array CGH para la identificación de deleciones/duplicaciones³⁴.

En otros fenotipos clínicos como la epilepsia migratoria maligna del lactante (EMML), que es una EE que cursa con crisis multifocales fármaco-resistentes, retraso global del desarrollo grave y con un cuadro eléctrico de electroencefalograma (EEG) característico, el estudio genético de un gen candidato podría ser rentable. A partir de un estudio llevado a cabo por Barcia y colaboradores⁸⁷ se identificaron mediante secuenciación Sanger variantes patogénicas en *KCNT1* en 6/12 (50%) de los pacientes. Dicho gen codifica proteínas del canal de potasio activado por sodio que contribuye a la hiperpolarización tras una descarga repetitiva (*firing*) a la vez que interactúa con otras proteínas citoplásmicas involucradas en transmisión de la señal intracelular. Estas alteraciones provocan una ganancia de función de forma que esta mayor corriente en el canal de potasio provoca que las interneuronas encargadas de modular la transmisión neuronal estén hiperpolarizadas e inactivas. Desde entonces, otros estudios han ratificado estos hallazgos y mutaciones en el gen *KCNT1* se detectan en el 39% de los pacientes analizados con EMML (28/71)⁶⁰.

Otras EEs donde el análisis de un determinado gen podrían ser rentables son: el estudio de *GRIN2A* en epilepsias “benignas” atípicas y el estudio del gen *SLC2A1* en pacientes con sospecha de síndrome de deficiencia de transportador de glucosa cerebral (GLUT1).

▪ Análisis mediante NGS en EEs

El desarrollo de NGS ha revolucionado el estudio etiológico de EEs, de manera que estamos asistiendo al descubrimiento de una gran cantidad de genes relacionados con esta patología. Mercimek y colaboradores en 2015⁸⁸ demostraron en una cohorte de 110 pacientes con EE que, el uso de paneles específicos de genes era de 3 a 6 veces más rentable para obtener el diagnóstico que el uso de un array CGH⁶⁹.

El primer estudio que mostró la utilidad de un panel de genes como una herramienta coste-eficiente fue realizado por el grupo de Lemke en 2012⁴³. Gracias a la implementación de un panel multigénico identificaron la causa genética en 16 de 33 pacientes con EEs (48%). Actualmente, los métodos de secuenciación mediante paneles específicos de genes de EEs y/o exoma clínico se consideran las técnicas diagnósticas genéticas de elección ante un paciente con EE, encontrando genes causales entre el 10-48,5% de los casos. Especialmente son rentables cuando las EEs se inician en el primer mes de vida (diagnósticas en el 40-66%)⁸⁹⁻⁹⁰, aquellas con patrón brote supresión como en el síndrome de Ohtahara y en los casos de encefalopatía mioclónica precoz (diagnósticas en el 61% de los casos)⁷⁵ o en EEs discinéticas (diagnósticas hasta en el 82%)⁹¹. En la **Tabla II** se han resumido los principales estudios publicados hasta la fecha.

El estudio más extenso fue el realizado por Carvill *et al*¹⁰² en 500 pacientes, previamente estudiados mediante un array CGH, en los que al usar un panel multigénico específico se identificaron variantes patogénicas en heterocigosis en el 10,4% de los casos, en genes que han sido identificados habitualmente en estudios posteriores: *SCN1A*, *STXBP1*, *CDKL5*, *KCNQ2*, *SYNGAP1*, *CHD2*). Estos hallazgos han sido reproducidos por nuestro grupo de trabajo analizando mediante dos paneles multigénicos (83 y 106 genes relacionados o asociados a epilepsia) a 87 pacientes con EE e identificando variantes patogénicas en el 19,5% de los pacientes, siendo especialmente rentable esta técnica en niños con inicio de su epilepsia antes del mes de vida (5/9: 55,6%)⁹⁷.

Tabla II. Estudios genéticos mediante NGS de encefalopatías epilépticas.

Tipo de epilepsia	N	Técnica genética	% positivos	Bibliografía
EE*	93	Panel (38-270 genes)	12,7%	<i>Mercimek, 2015⁸⁸</i>
Epilepsia FR	349	Panel (30-95 genes)	20,3%	<i>Parrini 2017⁹²</i>
EE<1 año	68	Panel 35 genes	17,6%	<i>Kodera H, 2013⁹³</i>
EE**	360	Panel 377 genes	8,1%	<i>de Kovel C, 2016⁹⁴</i>
EE	112	Panel (46 genes)	32%	<i>Moller R, 2016⁹⁰</i>
EE <1 año	40	Panel (16 genes)	40%	<i>Gokben S, 2017⁹⁵</i>
Epilepsia FR*	49	Panel (503 genes)	14,3%	<i>Segal E, 2016⁹⁶</i>
EE	87	Paneles (83 y 106 genes)	19,5%	<i>Ortega L, 2017⁹⁷</i>
EE <2 años*	50	WES (filtrado 137 genes)	22%	<i>Allen NM, 2016⁹⁸</i>
EE	40	WES (filtrado 412 genes)	27,5	<i>Wang Y, 2017⁹⁹</i>
EE<2 años	31	Panel (430 genes)	29%	<i>Fung CW, 2017</i>
EE	50	WES (filtrado 565 genes)	34%	<i>Demos M, 2017</i>
EE <3 años	70	Panel (480 genes)	34,3%	<i>Zhou P, 2018⁷³</i>
Epilepsia <2 meses*	76	Panel (46 genes)	39%	<i>Trump N, 2016⁸⁹</i>
EE*	28	Panel (28-53 genes)	21,4%	<i>Wang J, 2014¹⁰⁰</i>
Epilepsias <4 años	19	Panel (67 genes)	47%	<i>Della Mina, 2015¹⁰¹</i>
Epilepsia FR (heterogéneo)	33	Panel (265 genes)	48%	<i>Lemke 2012⁴³</i>
EE*	500	Panel (65 genes)	10,4%	<i>Carvill GL, 2013¹⁰²</i>
EE	89	WES (investigación)	33,7%	<i>Helbig K 2016,¹⁰³</i>
EE*	197	WES (investigación)	32%	<i>Hamdan FF, 2017¹⁰⁴</i>
EE <3 años	74	Panel (72 genes)	37,8%	<i>Rim JH, 2018¹⁰⁵</i>

WES: whole exome sequencing; **EE:** encefalopatía epiléptica; **EOEE:** inicio antes del año de edad; **FR:** fármaco-resistente

*: Ya se había realizado array CGH en >50% pacientes.

**. Se habían realizado otros estudios genéticos

Para realizar un estudio más amplio, incluyendo todos los genes que están asociados a patología puede realizarse una secuenciación exómica clínica, investigando genes que posteriormente podrían ser asociados a EEs, aunque esta aproximación tiene el inconveniente de un mayor coste respecto a un panel multigénico.

Con la realización del exoma completo (22.000 genes) es posible identificar genes potencialmente causales, especialmente en síndromes epilépticos en las que la aproximación mediante paneles de genes no ha sido tan exitosa. Este es el caso de los espasmos epilépticos, en los cuales mediante el uso de WES se ha identificado la causa genética en hasta el 40% de los pacientes¹⁰⁶.

Aunque el análisis del exoma completo ha demostrado ser una herramienta de gran relevancia en el campo de la investigación, son muchos los autores que defienden el uso en la práctica clínica habitual de paneles multigénicos, que incluyan los genes más significativos asociados a cada síndrome epiléptico, con los que se consigue gran rentabilidad con menor coste y menos tiempo así como menor porcentaje de VUS en comparación con el análisis del exoma. Así, por ejemplo, se estima que paneles de genes que contengan 100 genes obtienen una rentabilidad diagnóstica de alrededor de un 25%^{88,92,107-108}.

2.3.3.3. Alteraciones genéticas de las epilepsias generalizadas

Las epilepsias generalizadas (EG) constituyen el 20-30% del total de las epilepsias y se caracterizan por un fenotipo electroclínico que resulta de la combinación de crisis de ausencia, crisis mioclónicas y crisis generalizadas tónico-clónicas (CGTC) al que se suman un patrón EEG en el que se observan descargas generalizadas sobre una actividad basal normal¹⁰⁹. Es frecuente encontrar varios miembros afectados de algún tipo de EG en una familia. La sospecha de un componente genético en este tipo de epilepsia se hizo evidente desde los primeros estudios en gemelos con epilepsia¹¹⁰. Berkovic y colaboradores, estudiaron más de 200 gemelos con epilepsia y demostraron que la concordancia en gemelos monocigóticos es del 0,82 comparada con la obtenida en gemelos dicigóticos,

que era del 0,36. Este grado de concordancia es mucho mayor que el que presentan las epilepsias focales (0,36 monocigóticos *versus* 0,05 dicigóticos). Por ello, cuando se identificaron los primeros genes responsables de epilepsia a partir de 1995 se pensó que sería en este grupo de epilepsias (EG) donde sería más rentable el estudio genético. Pero, en los años siguientes, se demostró que sólo un pequeño porcentaje (<1-2%) de las EG se explican por alteraciones genéticas. Ejemplos de estas excepciones son las alteraciones en los genes *GABRG2*, *GABRA1* o *SYNGAP1* y los genes relacionados con las GEFS+ (*SCN1A*, *SCN1B*, *GABRG2* y *STX1B* entre otros)¹¹¹.

Habría que destacar el papel del gen *SLC2A1*, cuyas alteraciones son responsables de GLUT1 por fracaso en el transporte de la glucosa a través de la barrera hematoencefálica. Se calcula que hasta en un 1,4% de los pacientes con EG idiopáticas (7/504) presentan variantes patogénicas en este gen¹¹². Este porcentaje se eleva hasta en un 5-10% en pacientes con ausencias de inicio antes de los 4 años de edad (EOAE). De hecho, hay autores que recomiendan comenzar el estudio genético analizando, en primer lugar, la presencia de variantes patogénicas en este gen en pacientes con ausencias tipo EOAE, que además asocien otras características atípicas como retraso psicomotor/DI, trastornos del movimiento, fármaco-resistencia, EEG ictales atípicos u otro tipo de crisis asociadas¹¹³. En un estudio llevado a cabo por nuestro grupo¹¹⁴ analizamos la presencia de variantes patogénicas en *SLC2A1* en 43 pacientes españoles que presentaron ausencias junto con alguna de estas características atípicas, encontrándolas en dos ellos (4,65%), en concreto, en aquellos que más síntomas neurológicos asociaban.

Mientras que los estudios de asociación mediante secuenciación de genes candidatos son muy rentables en epilepsias familiares o de fenotipo grave como las EEs, no lo son en las EG. Así, en un estudio mediante secuenciación exómica en 878 pacientes con EG y 1.830 controles no se encontraron CNVs causantes de enfermedad¹¹⁵.

Actualmente se está sugiriendo que la herencia de las EG es poligénica, por lo que los descubrimientos del engranaje genético de las mismas se han realizado mediante la

identificación de genes de susceptibilidad, es decir, variantes que por sí mismas no justifican la aparición de enfermedad sino un riesgo aumentado de presentarla. Fueron los grandes estudios de detección de CNVs raras, los primeros en detectar que las microdeleciones descritas previamente en otros trastornos como DI, TEA o esquizofrenia, eran frecuentes en las EG. En concreto, tres de ellas (microdeleciones en 15q13.3, 16p13.11, 15q11.2) explican el componente genético en el 2-3% de estas epilepsias, de forma que presentar una microdelección en 15q13.3 (en el que se incluye el gen de del receptor alfa-7 del receptor nicotínico, *CHRNA7*) confiere un riesgo aumentado (OR 95 CI: 29-181) de presentar EG^{74,116}. Posteriormente, mediante un estudio de asociación del genoma completo (GWAS), en el que se analizaron variantes polimórficas comunes (presentes en >1% de la población) en 3.020 pacientes con EG y 3.954 controles, se identificaron varios genes relacionados con un aumento en la susceptibilidad de epilepsia: *CHRM3*, *VRK2*, *ZEB2*, *SCN1A* y *PNPO*¹¹⁷. En definitiva, la herencia de las EGs parece ser compleja, con diferentes y heterogéneos factores de riesgo que, en su mayoría, están por descubrir.

2.3.3.4 Alteraciones genéticas de las epilepsias focales

Generalmente se ha desestimado el peso de la genética como causa de epilepsias focales (EF) ya que se suele considerar que estas epilepsias son secundarias a lesiones adquiridas, a pesar de que ya en los primeros estudios, tanto los de agregación familiar como los estudios de concordancia en gemelos, se apuntaba a que un elevado porcentaje de pacientes con EF era secundarias a una causa genética¹¹⁸.

Mientras que en las epilepsias focales familiares la secuenciación de genes específicos es muy eficiente, el análisis genético secuencial en las epilepsias focales no familiares (más del 95% del total) es poco rentable. Por ejemplo, el estudio realizado por Tsai *et al*¹¹⁹ en el que se secuenció el gen *DEPDC5* en 293 pacientes con EF, sólo se encontraron dos pacientes con variantes probablemente patogénicas (0,9%). En nuestra experiencia, tras secuenciar este gen en 44 pacientes con EF no lesional, no encontramos ninguna variante patogénica (datos no publicados).

Tampoco los estudios para encontrar CNVs han sido muy exitosos. Así por ejemplo, el grupo de Heinzen¹²⁰ analizó 3.812 pacientes con epilepsias focales en su mayoría (>90%) encontrándose grandes deleciones en sólo el 0,9% de los pacientes fundamentalmente en la región 16p13.11.

En cambio, el análisis en paralelo de varios genes candidatos puede ser más rentable. En un reciente estudio realizado por Perucca¹²¹ mediante exoma clínico, con un filtrado de 64 genes en 40 pacientes con EF y algún antecedentes familiar de epilepsia, se identificaron 5 variantes patogénicas (en *SCN1A*, *DEPDC5*, *PCDH19*, *GABRG2* y *NPRL2*) y 3 variantes potencialmente patogénicas. La rentabilidad fue mayor en aquellos pacientes de menor edad.

Aparte de algunos casos de clara herencia monogénica, se piensa que la mayoría de las EFs tienen una herencia poligénica, aunque los diversos estudios para identificar polimorfismos de susceptibilidad no han sido exitosos.

El gen *DEPDC5*, relacionado como hemos visto con epilepsias focales aisladas/familiares y MDC, codifica una proteína que forma parte del complejo GATOR1, que inhibe la vía mTOR (diana de la rapamicina en células de mamífero) la cual es clave como reguladora de la proliferación y crecimiento neuronal. De forma que mutaciones en *DEPDC5* y en otros genes relacionados con EF como *NPRL2* and *NPRL3* conllevan una hiperfunción de la vía mTOR. Esto abre la puerta a diferentes tratamientos específicos como los inhibidores de esta vía como el everólimus o la rapamicina. Estos hallazgos genéticos podrían evitar que muchos pacientes con EF refractarias fueran considerados candidatos a cirugía de la epilepsia¹²².

Debemos tener en cuenta una consideración especial con las epilepsias focales idiopáticas (EFI) que incluyen los síndromes epilépticos "benignos" de la infancia: epilepsia rolándica (centro-temporal), epilepsia occipital tipo Panayiotopoulos y la epilepsia occipital tipo Gastaut. Cada vez se consideran menos "benignas", debido a que suelen asociar trastorno de las funciones ejecutivas y/o trastornos del lenguaje-lectoescritura en grado variable. En este espectro de EFI se incluyen también las EEs tipo "síndrome de punta onda continua

durante el sueño" (POCS) y el síndrome de Landau-Kleffner, ya que ambas epilepsias se consideran consecuencia de la propagación de las anomalías epilépticas características de las EFI. Todas ellas tienen unos síntomas propios (crisis motoras en la epilepsia rolándica, componente autonómico en las de tipo Panayiotopoulos y alucinaciones visuales complejas en las de tipo Gastaut), aunque comparten una serie de características clínicas (epilepsias focales no lesionales, con escasa frecuencia de crisis y con frecuente remisión espontánea sin necesidad de tratamiento salvo evoluciones atípicas) y eléctricas (actividad basal en sueño y vigilia normales con actividad epileptiforme característica que se activa en fase NREM). Se cree que todas ellas son secundarias a una compleja relación entre un cerebro en desarrollo (edad-dependientes) y una base genética común. En estas epilepsias se han identificado algunos genes causales tales como los defectos en *GRIN2A*, tanto en forma de CNV (microdeleciones) como de variantes patogénicas puntuales y su relación con el desarrollo de trastornos del espectro afasia-epilepsia. En 2013 se publicaron tres trabajos de grupos independientes que incluían a casi 1.000 pacientes con EFI, que demostraban que entre el 7 y el 20% de los mismos presentaban mutaciones en *GRIN2A*, especialmente en las formas más graves (Landau-Kleffner, POCS o EBi atípica)^{102,123-124}. Posteriormente, también se han relacionado deleciones en otros genes como *PRRT2* y *MDGA2* en las formas más graves de este *continuum* (POCS). Como en el resto de epilepsias focales, se cree que la mayoría de las EFI presentan una herencia compleja, identificándose algunos genes de susceptibilidad como el *ELP4*, ya que polimorfismos del mismo se han relacionado con la presencia de actividad epileptiforme centro-temporal²⁴.

2.3.3.5. Alteraciones genéticas de las epilepsias familiares

Los síndromes epilépticos focales hereditarios se describieron mediante los análisis de ligamiento o de asociación de familias con epilepsias de características similares. La mayoría de las variantes patogénicas encontradas en pacientes con epilepsias familiares se han identificado mediante NGS (al igual que en las EEs). De esta forma, en un estudio en el que se aplicó un abordaje genético heterogéneo (análisis secuencial de genes candidatos, array CGH o paneles de epilepsia) en 211 familias israelíes se encontraron variantes

patogénicas en un 23% de las mismas¹²⁵.

En algunas epilepsias el estudio genético es muy rentable, debido a que la mayoría de los genes descritos explican la mayor parte de los casos. Este es el caso de las convulsiones familiares benignas en el primer año de vida que, a su vez, comprende dos síndromes epilépticos familiares diferenciados únicamente por la edad de inicio: a) epilepsia neonatal benigna familiar (BFNS, del inglés *Benign Familial Neonatal Seizures*) de inicio en el primer mes; b) la epilepsia lactante benigna familiar (BFIS, del inglés *Benign Familial Infantile Seizures*) de inicio a partir del primer mes. Ambas entidades se caracterizan por ser epilepsias no lesionales familiares, de herencia autosómica dominante con penetrancia incompleta (75-85%) que se manifiestan por crisis focales motoras, muchas veces en forma de apnea, que a veces asocian alteración de la conciencia y que con relativa frecuencia se observa generalización secundaria. El EEG intercrítico es normal hasta en un 75% de los casos. El desarrollo psicomotor posterior es normal y suelen remitir en el primer año de vida (peor pronóstico si la alteración es en el gen *KCNQ2*). Con el estudio de 4 genes (*KCNQ2*, *KCNQ3*, *SCN2A* y *PRRT2*) se consigue explicar el 89-91% de los casos de BFNS/BFIS. De hecho, hay cierta especificidad, ya que las variantes patogénicas en *KCNQ2* se relacionan más con BFNS (76-81%) mientras que las mutaciones en *PRRT2* se asocian a BFIS (72%), especialmente si evolutivamente desarrollan coreatetosis paroxística cinesiogénica¹²⁶⁻¹²⁷. De manera puntual se han encontrado mutaciones en otros genes como *CHRNA2* o *SCN8A*¹²⁸.

En otras epilepsias familiares, en cambio, sólo identificamos una minoría de los genes responsables como en los casos GEFS+ (10-15%) o en la epilepsia hipermotora relacionada con el sueño. Esta última se caracteriza por crisis convulsivas estereotipadas de inicio brusco "hipermotoras" (movimientos complejos y abigarrados de boxeo, pedaleo o balanceo), tónicas o distónicas que suceden fundamentalmente durante el sueño y que se suelen acompañar de sintomatología vegetativa con un origen no necesariamente del lóbulo frontal¹²⁹. Fue en este tipo de epilepsia donde se describió el primer gen relacionado con epilepsia: *CHRNA4*⁵⁰. Posteriormente, se describieron otros genes relacionados con este fenotipo clínico como aquellos que codifican otras dos subunidades de este canal (α 2-

CHRNA2 y $\beta 2$ -*CHRNA2*), así como otros genes no relacionados con canalopatías como el *DEPDC5* y *KCNT1* (relacionado con cuadros de mayor afectación cognitiva y conductual). Todos estos genes sólo explican el 10-20% de los casos de este tipo de epilepsia¹³⁰.

Como ya hemos comentado previamente, variantes en heterocigosis del gen *DEPDC5* se relacionan con epilepsias focales aisladas. Pero también explican el 12-37% de epilepsias focales familiares no lesionales de herencia autosómica dominante¹³¹; entre otras: la epilepsia familiar del lóbulo temporal (2-3% casos)¹³², la epilepsia familiar focal con foco variable que se caracteriza por la presencia de crisis focales iniciadas en diferentes regiones corticales (hasta en el 87,5%)¹³³ o la epilepsia autosómica dominante con afectación auditiva que se caracteriza por crisis temporales en forma de auras generalmente auditivas, con frecuente alteración de la conciencia o evolución a CGTC que responde bien a fármacos antiepilépticos. Este último tipo de epilepsia es asimismo genéticamente heterogénea ya que se ha relacionado también con mutaciones en otros genes como: *LG11* hasta en el 30-50% de los casos, *RELN* en el 15-20%, y en menor medida en *CNTNAP2* y *SCN1A*⁶³.

2.3.4. Futuro en la genética de las epilepsias

A pesar de los grandes avances expuestos previamente, tan sólo podemos identificar la causa genética en un pequeño porcentaje de las epilepsias, especialmente en las monogénicas. Para poder diagnosticar ese 70% de epilepsias en las que no se ha identificado el gen o genes responsables, es esperable que en los próximos años asistamos a un desarrollo tecnológico que permita la optimización en la identificación de mosaicismos somáticos (que posiblemente expliquen muchas de las MDC), la detección de mutaciones en regiones intrónicas (que supone hasta un 99% del ADN) o la identificación de la causa genética de epilepsias presumiblemente poligénicas. La epigenética, entendida como aquellos cambios en la expresión del ADN que son heredables pero que no afectan a la secuencia de nucleótidos, es un área de investigación en constante expansión en epilepsia

y puede que en el futuro ayude a clarificar, al menos en parte, la etiología de muchas de las epilepsias¹³⁴.

Con la creciente creación de grupos colaborativos en epilepsia infantil y del adulto, y merced al abaratamiento progresivo de las diferentes técnicas diagnósticas genéticas es probable que las mismas se consideren como una herramienta más (como puede ser el EEG o la resonancia craneal) en el estudio etiológico del paciente con epilepsia. Para ello seguirá siendo muy importante la labor del clínico en la descripción del fenotipo. En función del mismo y la presencia/ausencia de casos familiares, se podrá recurrir a la herramienta genética que mejor rendimiento diagnóstico ofrezca¹³⁵.

2.4. UTILIDAD CLÍNICA DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO

2.4.1. Utilidad en otras enfermedades médicas

El espectacular avance tecnológico ha permitido que la genética ocupe un lugar cada vez más importante en la práctica clínica habitual en muchas especialidades médicas como es el caso de la Oncología. De hecho, las sociedades oncológicas como la ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) consideran un objetivo fundamental el que los oncólogos tengan una formación específica adecuada para la identificación de pacientes con una susceptibilidad genética a sufrir un cáncer y su correcta prevención. Debido a las implicaciones terapéuticas que tiene la genética en esta patología es frecuente que los servicios de oncología hospitalarios dispongan de consultas monográficas sobre Consejo Genético en Cáncer Hereditario¹³⁶. Un ejemplo claro son las opciones terapéuticas profilácticas como la salpingo-ooforectomía bilateral seguida de terapia hormonal sustitutiva en caso de alteración en gen *BRCA1* (relacionado con cáncer hereditario en mujeres)¹³⁷.

Su utilidad no sólo es en el paciente portador de la mutación, sino que puede ser útil para prevenir recurrencias en familiares también que presenten dicha mutación. En este sentido,

en otra especialidad médica como la Cardiología se ha demostrado que en aproximadamente en el 30% de las enfermedades congénitas cardíacas (miocardiopatía hipertrófica, síndrome de Brugada, síndrome de QT largo, entre otros) es posible una identificación de un gen causal; lo que a su vez puede ser útil para iniciar tratamientos profilácticos en pacientes pre-sintomáticos¹³⁸.

En las enfermedades neuropediátricas el abordaje genético también se considera útil. A raíz de la negativa de algunas aseguradoras médicas de costear el estudio genético en pacientes con DI o TEA, por considerar que sólo servía para confirmar un diagnóstico clínico y que no repercutía en una mejoría clínica del paciente, en muchos países con sistemas sanitarios privados se iniciaron estudios para comprobar su utilidad clínica. En el principal estudio en 752 niños con estas características¹³⁹ el uso de un array CGH supuso que el 79,6% de estos pacientes se beneficiarían de alguna intervención médica, ya fuera terapéutica o de ampliación diagnóstica, incluso en el 62% de aquellos con variaciones consideradas benignas¹⁴⁰⁻¹⁴¹.

La Obstetricia también se ha visto beneficiada de la irrupción de los estudios genéticos, debido al desarrollo de técnicas de selección de embriones mediante diagnóstico genético preimplantacional o, en general, por la mejora de la ansiedad en pacientes que disminuyen su incertidumbre al conocer la etiología de la enfermedad de su hijo. Hablamos de todas estas ventajas sin tener en cuenta el esperanzador desarrollo de terapias génicas en un número cada vez mayor de enfermedades, como la atrofia muscular espinal tipo 1, donde el nusinersén (un oligonucleótido antisentido que inhibe al silenciador del splicing de *SMN2*) ha permitido a día de hoy una mayor supervivencia y mejoría clínica¹⁴².

2.4.2. Utilidad en epilepsia

Desde la descripción de los primeros genes relacionados, los estudios genéticos se han considerado una herramienta eficaz para el diagnóstico etiológico de personas con epilepsia¹⁴³. Pero, igualmente, desde el primer momento ha existido un vivo debate acerca

de su utilidad clínica. Hace menos de diez años, en 2008 algunos autores¹⁴⁴ defendían que la genética no aportaba nada que mejorara el manejo del paciente con epilepsia ya que no *“iba a modificar el tratamiento”* ni *“era necesaria para confirmar un diagnóstico síndrómico”*.

En epilepsia solo disponemos del estudio realizado por Brunklaus y colaboradores¹⁴⁵ en 163 médicos y 187 familiares de pacientes con mutaciones patogénicas en el gen *SCN1A*. Entre las ventajas de un diagnóstico genético referidas por los médicos destacaban el poder llegar a un diagnóstico precoz antes que con los datos electro-clínicos en el 48%, evitar otras pruebas complementarias en el 67%, el poder proporcionar un consejo genético en el 83% y hasta en un 69% de los casos también se realizaron modificaciones en el tratamiento, que conllevaron un mejor control de crisis hasta en la mitad de los mismos (42%). La mayoría de los familiares vieron esta información como útil (87%) y aseguraron que se evidenció una mejoría del manejo de su hijo (61%).

El conocimiento de la base genética suele ser considerado como un aspecto positivo por el paciente y su familia al poder tomar decisiones reproductivas y ajustar sus expectativas al pronóstico de la enfermedad. El único estudio realizado en 20 adultos con epilepsias familiares recogía que la mayoría de los afectos aseguraban que conocer la base genética de su epilepsia les había supuesto una menor ansiedad¹⁴⁶.

En un informe de la ILAE en 2010¹⁴⁷ se afirmaba que *“se conoce poco sobre el impacto del estudio genético en pacientes con epilepsia a día de hoy”*. Desde entonces, a pesar del gran avance de las técnicas diagnósticas y del conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos y neurobiológicos, son anecdóticos los estudios que analicen el impacto del estudio genético de la epilepsia en pacientes y en el manejo médico de su epilepsia.

3. JUSTIFICACIÓN

3. JUSTIFICACIÓN

Desde el primer momento en que se identificó el primer gen causante de epilepsia, se pensó en los posibles beneficios clínicos derivados de los estudios genéticos. Aunque sigue existiendo cierta controversia en la comunidad científica acerca de su utilidad en la práctica clínica habitual, se considera que el abordaje genético en el estudio de las epilepsias podría traducirse en una mejora de aspectos percibidos tanto por médicos (mejoría de la información, consejo genético, cambios terapéuticos, ahorro en pruebas complementarias y en costes) como por familiares. A pesar de estas expectativas, a día de hoy, no existe ningún estudio que haya analizado o esté valorando el impacto del estudio genético sobre el tratamiento y seguimiento, ni de su repercusión en la calidad de vida de los pacientes con epilepsia

4. HIPÓTESIS

4. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS PRINCIPAL

1. El estudio genético en un paciente con epilepsia implicaría una mejora en distintos aspectos médicos como: mejora del conocimiento de la epilepsia, modificaciones en el diagnóstico, evitar pruebas complementarias, permitir un consejo genético, identificación de otros familiares afectados y optimización del tratamiento médico.

HIPÓTESIS SECUNDARIAS

1. Identificar la causa genética de una epilepsia se asociaría a una mejora en la percepción de enfermedad por parte del paciente y/o familiares.
2. Entre los pacientes con epilepsia de causa genética, existen determinadas variables clínicas que se asocian a una mayor utilidad del estudio genético.
3. El análisis genético resultaría ser una adecuada herramienta en términos coste-eficiencia en el estudio etiológico de la epilepsia.

5. OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

1. Analizar la **utilidad** del diagnóstico genético en diferentes **aspectos clínicos** como: mejorar el conocimiento de las bases fisiopatológicas de la enfermedad, favorecer el ahorro de pruebas complementarias, modificar el diagnóstico y/o cambiar el tratamiento instaurado en el paciente con epilepsia.
2. Evaluar la repercusión de la implementación del estudio genético en la detección de familiares afectados y posterior aplicación de **consejo genético**.
3. Investigar los **efectos** del diagnóstico genético para el paciente con epilepsia y su **familia** respecto al conocimiento de la enfermedad.
4. Estudiar si la aplicación del estudio genético tiene alguna repercusión sobre la **calidad de vida** de los pacientes con epilepsia y sus familiares.
5. Determinar si el estudio genético es una herramienta **coste-eficiente** en los pacientes con epilepsia

6. PACIENTES y MÉTODOS

6. PACIENTES Y MÉTODOS

6.1. POBLACIÓN A ESTUDIO

La muestra integrante de nuestro trabajo está constituida por pacientes de cualquier edad con epilepsia (o actividad epileptiforme) de debut en la infancia en los que se hubiera realizado un estudio genético para conocer su etiología.

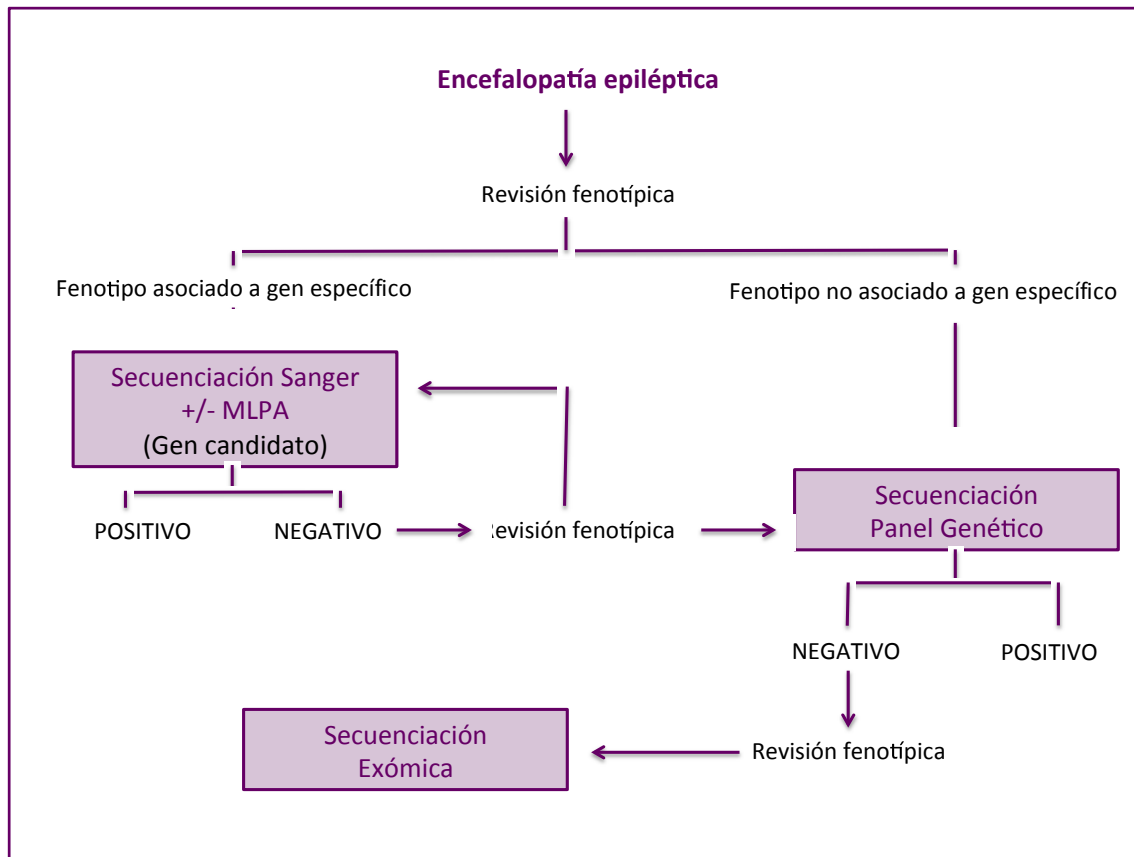
6.1.1 Criterios de inclusión

Se seleccionaron a pacientes que fueron incluidos en los siguientes estudios de investigación genética de epilepsias de inicio en edad infantil, llevados a cabo en el Laboratorio de Genética de las Epilepsias de Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) – Fundación Jiménez Díaz CIBERER en el periodo transcurrido entre enero 2009 hasta agosto 2017:

- Grupo 1: **estudio de investigación de encefalopatías epilépticas de inicio en la infancia.**

El objetivo del proyecto era la identificación de alteraciones genéticas en EEs de inicio antes de los 18 años de edad. Iniciado en enero 2009. Participaron 108 pacientes (49,54%). En los primeros años del estudio se emplearon frecuentemente técnicas diagnósticas de análisis de gen candidato (mediante secuenciación +/- MLPA), mientras que a partir de 2013 en aquellos fenotipos no asociados a alteraciones de genes específicos (como es el caso, por ejemplo de *SCN1A* en síndrome de Dravet) se realizaron técnicas NGS (paneles específicos y secuenciación exómica). En general, se usó un algoritmo diagnóstico que combina todas estas pruebas genéticas (figura 9). Así pues, este algoritmo demostró una rentabilidad de 37,4% en identificar causas genéticas en EEs de inicio en los primeros dos años de vida⁴⁶.

Figura 9. Algoritmo diagnóstico de las encefalopatías epilépticas



- Grupo 2: **estudio de investigación de ausencias atípicas.** Se buscaron defectos en el gen *SLC2A1*, relacionados con el déficit del transportador de glucosa cerebral (GLUT1) en pacientes con ausencias de características atípicas que incluían: inicio precoz (antes de los cuatro años), fármaco-resistencia, presencia de familiares de primero grado con ausencias, EEG atípico o asociación de DI, otro tipo de crisis o un trastorno de movimiento. Iniciado en septiembre 2014. Participaron 31 pacientes (14,22%).
- Grupo 3: **estudio de investigación epilepsia del espectro afasia-epilepsia.** Se analizaron alteraciones en los genes *GRIN2A* y *CNKSR2* en pacientes con trastorno del lenguaje y anomalías epileptiformes focales que se activaran >50% en sueño. Iniciado en enero 2015. Participaron 27 pacientes (12,38%).
- Grupo 4: **estudio de investigación de epilepsias focales familiares de inicio en el primer año de vida.** Se buscaron alteraciones, tanto variantes patogénicas como CNV, del gen

KCNQ2 en pacientes con BFNS y del gen *PRRT2* en pacientes con BFIS. Iniciado en mayo 2012. Participaron 17 pacientes (7,79%), tres de ellos de una misma familia.

- Grupo 5: **estudios genéticos diagnósticos** (no de investigación). En nuestro estudio también se incluyó un grupo de 38 pacientes (17,43%) seguidos en la consulta de Neuropediatría o en la Unidad de Epilepsia de nuestro centro durante un periodo de dos años (septiembre 2015 a agosto 2017), en los que se había realizado un estudio genético dentro del proceso de diagnóstico clínico de su epilepsia. Se realizó en los servicios genéticos de diferentes centros hospitalarios (Fundación Jiménez Díaz, Hospital Sant Joan de Déu, Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica) o distintas empresas privadas de diagnóstico genético (CGC Genetics, Nimgenetics y Secugen).

6.1.2. Investigadores participantes

En este estudio han participado 8 investigadores de nuestro propio centro y 40 médicos de otros 26 centros hospitalarios nacionales e internacionales; colaboraciones que se enmarcan dentro de la plataforma GEGEI (Grupo Español de Genéticas de las Epilepsias de la Infancia) (www.gegei.es), iniciativa liderada por nuestro grupo (**anexo 1**).

6.2. TÉCNICAS GENÉTICAS

En la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio (180/218: 82,57%), el análisis genético de las epilepsias se realizó en el Laboratorio de Genética de las Epilepsias de nuestro centro, en donde se emplearon las siguientes técnicas:

- Para la detección de variantes patogénicas se empleó el método enzimático de terminación de cadena de ADN por incorporación de dideoxinucleótidos trifosfatos (ddNTPs) descrito por Sanger⁴⁰.

- Para la identificación de las deleciones y duplicaciones de un gen (CNV) no detectables por técnicas de secuenciación se realizó mediante técnica MLPA utilizando salsas (mezcla de sondas) comerciales (MRC-Holland) específicas para cada gen: salsa p137 (gen *SCN1A*, 2q24.3), salsa p330 (gen *PCDH19*, Xq22.1), salsa p138 (gen *SLC2A1*, 1p34.2), salsa de genes de síndrome de Rett "atípico" p 189 (que incluye los genes *CDKL5*, Xp22; *ARX*, Xp22.1 y *NTNG1*, 1p13.3) y salsa p138-C1 (gen *STXBP1*, 9q34.11). Para el estudio de CNVs en los genes *GRIN2A* y *CNKSR2* se empleó una técnica de array CGH utilizando un diseño de resolución de 60K (SurePrint G3, Agilent), personalizado en regiones de interés hasta 1Mb.
- En 57 pacientes (26,15%) se realizó un panel dirigido de genes de epilepsia. Se emplearon dos paneles diseñados mediante la herramienta informática *SureDesign* (Agilent Technologies) que incluían 83 y 106 genes relacionados con epilepsia según la base OMIM, comprendiendo las regiones exónicas y las regiones de unión exón-intrón (máximo 100 pb). Las muestras de ADN genómico fueron procesadas por el sistema *HaloPlex* y se realizó la secuenciación en un secuenciador de nueva generación *MiSeq* (Illumina). Estas lecturas se alinearon mediante el algoritmo BWA (*Burrows-Wheeler Aligner*) y posteriormente se identificaron mediante las herramientas bioinformáticas *GATK* (*Genome Analysis Toolkit*) y *Freebayes* (ambos de la plataforma *DNAnexus*) y *BAQ* (*Base Alignment Quality*) *SNP caller* (*SureCall*). Los paneles cubrían el 99,42-99,78% de la región de interés, las regiones no cubiertas se analizaron mediante secuenciación Sanger.
- 16 pacientes (7,34%) se estudiaron mediante secuenciación exómica. En estos casos los fragmentos de ADN se capturaron mediante hibridación con sondas específicas biotiniladas en termociclador *Thermal Cycler 2720* (Applied Biosystems). La secuenciación de las librerías se realizó en secuenciador *HiSeq 2000* (Illumina). Esta información se alineó mediante el algoritmo BWA (*Burrows-Wheeler Aligner*) *mem v0.7.8*, y, posteriormente, fue sometida a la identificación de variantes respecto al genoma de referencia mediante la herramienta bioinformática *GATK* (*Genome Analysis Toolkit*) *Haplotype Caller v3.3*.

Para definir la patogenicidad de las variantes encontradas se siguieron las últimas recomendaciones del Colegio Americano de Genética Médica y Genómica⁴⁴. En primer lugar, se excluyeron aquellas con una frecuencia del alelo menos común (MAF) superior a 1% según las siguientes bases de datos: *dbSNP*, *1000 Genomes Project*, *Exome Sequencing Project* y *Exome Aggregation Consortium*. En segundo lugar, se eliminaron aquellas variantes sinónimas e intrónicas de las que no se conocen efectos funcionales. Posteriormente, se realizaron predicciones de la patogenicidad mediante la utilización de una serie de herramientas bioinformáticas (análisis *in silico*) como *Polyphen2*, *SIFT*, *Mutation Taster* y *Human Splicing Finder*.

Todas las variantes seleccionadas se validaron mediante secuenciación Sanger. Por último, se realizaron estudios de segregación familiar y se revisó su coincidencia con el fenotipo clínico del paciente.

Las técnicas genéticas empleadas en los 38 pacientes cuyo estudio genético se había realizado previamente en otros centros diferentes del Laboratorio de Investigación Genética de las Epilepsias de nuestro centro (grupo 5), fueron muy diversas: cariotipo de alta resolución, array CGH (resolución 60k), paneles multigénicos o exomas clínicos filtrados (desde 4 a 134 genes).

6.3 VARIABLES RECOGIDAS

6.3.1. Información clínica de los pacientes

Los datos clínicos de cada paciente se recopilaron de manera retrospectiva mediante la consulta de informes clínicos, durante dos años (desde septiembre 2015 a agosto 2017). En aquellos casos en que la información fue insuficiente se contactó directamente con los familiares del paciente o el médico responsable del mismo (neuropediatra o neurólogo). Se recogieron los siguientes aspectos clínicos:

- Características del **médico** del paciente;
 - Hospital en el que ejerce su actividad médica.
 - Especialidad: neuropediatra o neurólogo de adultos.
- Características del **paciente**:
 - Sexo.
 - Edad del paciente (en el momento en que recoge la información, que coincide con el momento en que se solicitó a su médico y familiares que cumplimentaran los cuestionarios de utilidad).
 - Presencia de hermanos.
 - Antecedentes de epilepsia o trastornos del movimiento en familiares de primer grado.
 - Alteraciones significativas en la exploración física.
 - Paciente portador de gastrostomía o traqueostomía.
 - Otros trastornos médicos aparte de la epilepsia.
 - Malformaciones congénitas del sistema nervioso central.
- Características de la **epilepsia**:
 - Edad de inicio de la crisis epilépticas (o de identificación de la actividad epiléptica en aquellos pacientes en que no desarrollaron crisis).
 - Tipo de epilepsia. Síndrome epiléptico siempre fuera posible. Para encuadrar el tipo de epilepsia o síndrome epiléptico nos hemos basado en la clasificación de Engel y colaboradores en 2001¹⁴⁸ y, de esta forma, las hemos clasificado como: epilepsia focal idiopática/familiar, epilepsia focal sintomática/criptogénica, epilepsia generalizada, encefalopatía epiléptica, crisis febriles y actividad epiléptica sin desarrollo de crisis.
 - Tipos de crisis que ha sufrido el paciente. Para clasificar los tipos de crisis hemos tenido en cuenta la última clasificación de la ILAE de 2017¹⁰: crisis focales, focales con evolución a tónico-clónica, generalizadas motoras y generalizadas no motoras. Debido a su uso extendido en la práctica clínica también hemos

incluido el término de "crisis parciales complejas" para referirnos a aquellas crisis focales no motoras con alteración de la conciencia.

- Control de crisis. Para considerar que la epilepsia se encontraba bien controlada hemos tenido en cuenta la definición de la ILAE de 2010⁷⁰ en la que considera esta situación cuando hay una ausencia de crisis epilépticas durante un periodo mínimo superior a tres veces el tiempo entre crisis epilépticas más largo o bien un tiempo mínimo de doce meses.
- Característica de fármaco-resistencia atendiendo a la definición de la ILAE de 2010⁷⁰ de no control de las crisis a pesar de haber iniciado dos tratamientos antiepilépticos apropiados y bien tolerados.
- Éxito del paciente.
- **Neurodesarrollo:**
 - Trastorno de aprendizaje. Se recogió la presencia de diferentes trastornos del neurodesarrollo recogidos por la nueva clasificación DSM-V (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, del inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*)¹⁴⁹ que incluyen: TDAH, TEA, trastornos específicos de aprendizaje (de al menos moderada intensidad), trastorno del lenguaje, trastorno del desarrollo de la coordinación y trastornos cognitivos. Dentro de estos últimos, los dividimos en: DI, retraso global del desarrollo (en menores de 5 años) y DI no especificada. Debido a la imposibilidad de conocer la evolución clínica completa de la mayoría de los pacientes, para estratificarlos según la gravedad del mismo, hemos recurrido a la puntuación del cociente intelectual (CI), siguiendo la clasificación previa (DSM-IV) en las que los identifica como funcionamiento intelectual límite (CI 71-84), o DI leve (CI: 50-70), moderado (CI: 35-50), grave (CI: 20-35), profundo (CI: <20).
 - Trastorno de conducta o psiquiátricos que requirieran un tratamiento farmacológico específico como neurolépticos o antidepresivos, entre otros.

- Regresión en aprendizaje o conducta tras el inicio de crisis epilépticas o actividad epiléptica.
- **Manejo médico** de la epilepsia:
 - Tratamientos antiepilépticos (farmacológicos y no farmacológicos) utilizados. Se especificó si el paciente había sido sometido a cirugía de epilepsia.
 - Tratamientos antiepilépticos que el paciente tomaba en el momento en que se inició el abordaje genético de su epilepsia.
 - Pruebas complementarias realizadas dentro del estudio etiológico de la epilepsia hasta el momento del inicio de los estudios genéticos específicos.
- **Análisis genético:**
 - Análisis genéticos realizados para el estudio etiológico de la epilepsia.
 - En caso de haberse encontrado un defecto genético las variantes encontradas se describieron y se definió su patogenicidad siguiendo las últimas recomendaciones del Colegio Americano de Genética Médica y Genómica⁴⁴ como: patogénica, probablemente patogénica, VUS, probablemente benigna o benigna.
 - Identificación de otros casos familiares con el mismo defecto genético.
 - Tiempo transcurrido desde el inicio de la epilepsia del paciente hasta que se solicitó el estudio genético de la misma.
 - Tiempo transcurrido en el proceso del estudio genético.
 - Tiempo transcurrido desde que el médico responsable del paciente informara a los padres y/o paciente de los resultados del estudio genético.

6.3.2. Repercusión del diagnóstico genético sobre la orientación médica de los pacientes

Para conocer la opinión acerca de la repercusión de las pruebas genéticas en el manejo clínico, se solicitó que se respondiera un cuestionario de elaboración propia a cada uno de los médicos responsables el seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio. Para ello, se diseñó una encuesta de 12 preguntas que consistía en: diez preguntas cerradas de

elección única (las respuestas de siete de ellas consistían en: "SI", "NO" y "NS/NC"), una pregunta de elección numérica (para cuantificar la utilidad del test genético del 1 al 10) y una pregunta abierta para recoger opiniones adicionales que no hubieran sido incluidas en las preguntas previas.

La encuesta recoge preguntas acerca de si la prueba genética había modificado aspectos médicos como: conocimiento de la enfermedad, consejo genético, cambio en pruebas complementarias, modificaciones en el tratamiento y reacción percibida de los padres/paciente ante el resultado, así como preguntas acerca de la utilidad general en el manejo médico (**figura 10**). El diseño de la encuesta se desarrolló a través de la herramienta informática *Google Form*, vinculada a un correo Gmail específico para este estudio y una hoja de recogida de datos de Excel. En la mayoría de los casos se realizó la encuesta vía mail y de manera puntual se realizó de manera personal.

6.3.3. Repercusión del diagnóstico genético en el paciente y familiares

Para conocer la opinión acerca de la utilidad percibida por el paciente con epilepsia y/o de sus familiares sobre las pruebas genéticas se recogió información mediante un cuestionario de diseño propio. La encuesta se entregó a los familiares con un tiempo mínimo de un mes tras haber sido informados del resultado del test genético. Se diseñó una encuesta de 11 preguntas que consistía en: ocho preguntas cerradas de elección única (las respuestas consistían en: "SI", "NO" y "NS/NC"), una pregunta de escala tipo Likert, una pregunta de elección numérica (para cuantificar la utilidad del test genético del 1 al 10) y una pregunta abierta para recoger opiniones adicionales que no hubieran sido incluidas en las preguntas previas.

La encuesta recoge preguntas acerca de si la prueba genética había modificado aspectos particulares como: conocimiento de la enfermedad, información a otros familiares, cambio en pruebas complementarias o en el manejo médico así como repercusión en su calidad

de vida. También se preguntó por aspectos más generales como la utilidad para la investigación y conocimiento futuro de la enfermedad. Por último, también se demandó información acerca de los sentimientos generados tras conocer el resultado genético en términos de ansiedad, tristeza y alivio (**figura 11**). El diseño de la encuesta se desarrolló con el mismo procedimiento descrito en el apartado previo. En la mayoría de los casos se realizó la encuesta vía mail y de manera puntual se realizó de manera personal.

6.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 24.0 (Inc. Chicago, IL).

En la fase descriptiva se sistematizó la distribución de las variables de interés en nuestra población, de modo que se calcularon medias y porcentajes para las variables cualitativas, mientras que las variables cuantitativas se expresaron mediante la media y la desviación típica si seguían una distribución normal o mediante la mediana y el rango intercuartílico si no seguían una distribución normal.

Se estudió la asociación entre presentar un defecto genético (incluyendo aquellas variantes patogénicas o probablemente patogénicas), VUS o no presentar alteración genética (incluyendo también variantes benignas) y las variables de utilidad de médicos y familiares. Asimismo de los 80 pacientes que presentaban una posible alteración genética (aquellos con variantes patogénicas y probablemente patogénicas), se estudió la existencia de una asociación entre las variables de utilidad de médicos-familiares con las variables clínicas.

Figura 10. Encuesta de utilidad entregada a los médicos participantes

CUESTIONARIO A MÉDICOS SOBRE LA UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO EN EPILEPSIAS DE INICIO EN LA INFANCIA

	SI	NO	NS/ NC
1. ¿Le ha sido útil esta prueba para confirmar el diagnóstico que tenía?			
2. ¿Le ha sido útil esta prueba para confirmar una sospecha clínica (no tenía diagnóstico establecido)?			
3. ¿Le ha ayudado esta prueba para conocer mejor la enfermedad de su paciente?			
4. ¿Le ha sido útil para facilitar una información al paciente y/o sus familiares; o le ha ayudado para que el paciente conozca mejor la enfermedad?			
5. ¿Ha modificado el tratamiento del paciente tras el resultado de la prueba genética?			
5.a. En caso afirmativo, especifique el cambio de tratamiento que ha realizado			
5.b. ¿Ha evitado fármacos que considera que podrían empeorar su epilepsia? En caso afirmativo: ¿cuál ha sido el cambio?			
5.c. El cambio de tratamiento realizado, ¿ha mejorado el control de la epilepsia (¿intensidad y/o frecuencia) o a nivel conductual o cognitivo?			
6. ¿Considera que ha sido útil para evitar otras pruebas complementarias?			
6.a. En caso afirmativo, ¿qué prueba complementaria hubiera realizado en caso de no haber tenido disponible el estudio genético?			
7. ¿Le ha sido útil para proporcionar un consejo genético?			

8. ¿Qué prueba complementaria hubiera realizado antes? (elija una de las opciones)
- ¿Neuroimagen o estudio genético?
 - ¿Estudio metabólico ampliado o estudio genético?
 - ¿Neuroimagen no convencional (RM de alta resolución, PET...) o estudio genético?
 - ¿Estudio de enfermedades mitocondriales/depósito (biopsia muscular o piel) o estudio genético?
9. Conocer la etiología genética de la epilepsia de su paciente (marque una opción):
- No cree que mejore el manejo médico de su paciente ahora ni en un futuro
 - Mejora a día de hoy el manejo médico de su epilepsia.
 - Mejorará en un futuro el manejo médico de su epilepsia
10. ¿Qué reacción observó en los padres al informarles sobre el resultado genético de la prueba? (marque una opción)
- Lo consideraron como algo positivo.
 - Lo consideraron como algo negativo.
 - Indiferentes
11. ¿Cómo de útil (considerando "1" como "nada útil" y "10" como "algo imprescindible") ha sido el estudio genético para el manejo del paciente?
12. Otros comentarios acerca de la utilidad de las pruebas genéticas en la epilepsia de su paciente

Figura 11. Encuesta entregada a los familiares del estudio

**CUESTIONARIO A PADRES SOBRE LA UTILIDAD DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO EN
EPILEPSIAS DE INICIO EN LA INFANCIA**

Le solicitamos que conteste (SI/NO) una serie de preguntas acerca del impacto que el estudio genético ha tenido en el cuidado de su hijo/a.

	SI	NO	NS/NC
1. ¿Le ha servido esta prueba para comprender mejor la epilepsia de su hijo?			
2. ¿Cree que los estudios genéticos producirán un manejo médico mejor para otros niños con la epilepsia de su hijo en un futuro?			
3. ¿Le ha sido útil de cara a la posibilidad de tener más hijos (consejo genético) o a la hora de informar al resto de familiares sobre el papel genético de la epilepsia de su hijo?			
4. ¿Cree que el estudio genético facilitó un mejor manejo de la epilepsia de su hijo?			
5. ¿Considera que la prueba genética es útil para evitar otras pruebas complementarias a su hijo?			
6. ¿Considera útil esta prueba en la investigación y conocimiento de la epilepsia?			
7. ¿Considera que ha recibido información adecuada sobre la prueba genética que se realizó a su hijo?			
8. ¿Cree que la prueba genética ha mejorado la calidad de vida de su hijo o la suya propia?			

9. ¿Qué sentimientos provocó en ustedes el conocer el resultado genético?

	Mucho más	Un poco más	Igual	Un poco menos	Mucho menos
Ansiedad/Preocupación					
Tristeza					
Alivio					

10. ¿Qué grado de utilidad (del 0 al 10) considera usted que ha tenido la prueba genética? ("0" se considera como "algo inútil" y 10 como "algo indispensable")

11. Otras opiniones sobre el estudio genético en epilepsias

Para la comparación de variables cualitativas se utilizó la prueba de la Chi-cuadrado. Las variables cuantitativas no paramétricas fueron comparadas mediante la prueba de Mann-Whitney en el caso de comparación de dos grupos, y mediante la prueba de Kruskal-Wallis en el caso de comparación de tres o más grupos. La correlación entre variables cuantitativas no paramétricas fue analizada mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

Para valorar el grado de concordancia entre respuestas sobre utilidad proporcionadas por los médicos y por los padres se utilizó el índice Kappa y el coeficiente de correlación intraclase.

Se emplearon las pruebas de Chi-cuadrado y de Mann-Whitney para el estudio de homogeneidad respecto a las características clínicas de dos grupos de pacientes: aquellos con defectos genéticos *versus* aquellos pacientes sin alteración genética o variantes benignas.

6.5. COMITÉ ÉTICO

El protocolo de estudio cumple las normas de Helsinki y la legislación española sobre investigación clínica en humanos, y ha sido aprobado por el Comité Ética e Investigación Clínica del Instituto de Investigación Clínica de la Fundación Jiménez Díaz con fecha del 12 de Agosto de 2013 ([anexo 2](#)).

Todos los pacientes y familiares fueron debidamente informados de la naturaleza del estudio y se recogió el oportuno consentimiento informado de "Impacto del Estudio Genético de las Epilepsias" ([anexo 3](#)) (antes de la participación en el mismo. En aquellos en los que el estudio se realizó en el Laboratorio Genético de Epilepsias, habían firmado previamente también el consentimiento específico de "Genética Molecular de las Epilepsias" ([anexo 4](#)).

6.6 FINANCIACIÓN

Para la realización de los estudios genéticos en el Laboratorio de Genética de las Epilepsias de la Fundación Jiménez Díaz se recibió financiación por parte del Ministerio de Economía Industria y Competitividad: SAF2013-48960-P y SAF2014-59594-R.

7. RESULTADOS

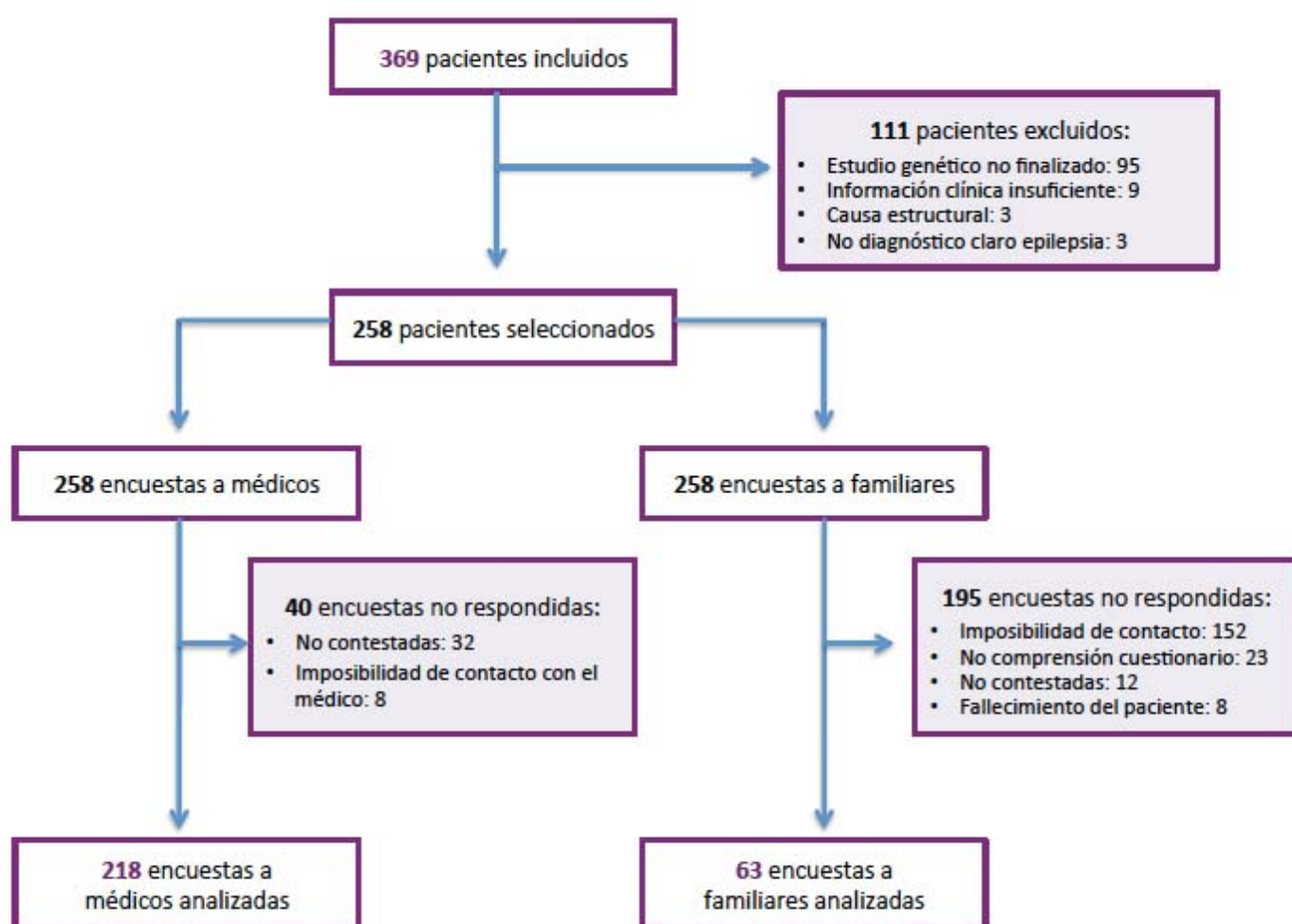
7. RESULTADOS

7.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

7.1.1. Selección de la muestra

Inicialmente, se seleccionaron 369 pacientes que cumplieran los criterios de inclusión de nuestro estudio. Con posterioridad, se excluyeron a 111 pacientes por diferentes motivos (figura 12). En suma, se recogieron las características clínicas de 258 pacientes. De éstos, se analizaron 218 encuestas respondidas por médicos y 63 encuestas respondidas por los familiares de pacientes.

Figura 12. Diagrama de Flujo de Pacientes



7.1.2. Características clínicas de la muestra (fenotipo)

A continuación se describirán las características clínicas de los 218 pacientes seleccionados en los que se pudo recoger información acerca de la utilidad del estudio genético (en cuestionarios para médicos y/o familiares) (Tabla III).

7.1.2.1. Características demográficas

Se incluyeron un 50,9% de varones y un 49,1% de mujeres. La mediana de edad en el momento del inicio del estudio fue de 9 años (rango de 0,5-57). No obstante, un 23,96% eran mayores de 18 años.

7.1.2.2. Características clínicas

Mientras que los antecedentes personales de riesgo neurológico fueron poco frecuentes (dos pacientes prematuros de <32 semanas de edad gestacional) la presencia de antecedentes familiares de primer grado o hermanos con epilepsia y/o trastorno del movimiento fue alta (22,5%).

La comorbilidad de trastornos psiquiátricos fue baja (16,13%), dentro de los que destacaba la asociación de trastornos de conducta. Asimismo la comorbilidad con otros trastornos médicos fue baja (6,94%), fundamentalmente enfermedades autoinmunes/inflamatorias (colitis ulcerosa, neuropatía desmielinizante o síndrome uveomeningeo entre otros). En cambio, la mayoría padecían algún tipo de trastorno de aprendizaje (82,33%), fundamentalmente de intensidad moderada-grave como DI (43,25%), retraso global del desarrollo moderado-grave (17,21%) o TEA (6,98%).

La mayoría de los pacientes no presentaban anomalías significativas en la exploración física (59,81%), siendo los hallazgos más frecuentes el trastorno del movimiento (14,02%), ataxia (12,15%), hipotonía (9,77%) y rasgos dismórficos (4,67%). Un pequeño porcentaje de los pacientes eran portadores de gastrostomía (3,72%) o traqueostomía (0,05%). Durante el periodo de realización de las técnicas genéticas fallecieron 8 pacientes (3,69%) y en 2 se descubrió la presencia de MDC causales.

7.1.2.3. Características de la epilepsia

Excepto 4 pacientes que presentaban actividad epileptiforme asociada a algún trastorno del neurodesarrollo o del movimiento sin desarrollo de crisis epilépticas (1,83%) y 2 niños con crisis febriles complejas (0,92%), el resto tenían un diagnóstico de epilepsia (97,25%). El tipo de epilepsia más común fueron las EEs, presentes en 112 pacientes (51,37%). Las EG (25,23%) fueron más frecuentes que las EF, tanto idiopáticas (15,14%) como aquellas sintomáticas-criptogénicas (5,51%). En la mayoría de las ocasiones, las crisis epilépticas (o la identificación de la actividad epiléptica) se iniciaron antes de los 2 años de edad (57,87%) con un rango que varió entre el primer día de vida y los 22 años. En casi la mitad de los pacientes se produjo, asociado temporalmente al debut de la epilepsia, una regresión (32,09%) o un estancamiento (13,49%) en el desarrollo psicomotor o del aprendizaje.

Generalmente los pacientes presentaron más de un tipo de crisis (media: $1,58 \pm 0,76$). En el momento de inicio del estudio genético, la mayoría (88,41%) recibía algún tipo de tratamiento para su epilepsia, frecuentemente más de un fármaco antiepiléptico (FAE), con una media de $1,88 \pm 1,19$ (rango 0-5) fármacos, siendo el ácido valproico el más usado en monoterapia (10,14%). A pesar de ello, en casi la mitad de las ocasiones la epilepsia permanecía sin controlarse (45,33%) y hasta 142 pacientes (66,35%) presentaban una epilepsia fármaco-resistente. Tan sólo 4 pacientes no habían recibido ningún tratamiento antiepiléptico (1,92%). La mayoría de los pacientes habían usado más de tres FAEs (mediana de 3,5) con un rango amplio desde 1 hasta 20. Los tipos de tratamiento fueron muy diversos e incluían: 35 diferentes FAEs, distintas pautas de corticoides, dieta cetogénica, inmunoglobulinas, estimuladores (vagal y trigeminal) y técnicas quirúrgicas paliativas (callosotomía).

7.1.2.4. Características de las pruebas complementarias

Antes del inicio del estudio genético, se habían realizado muchas y variadas pruebas orientadas al estudio etiológico (sin incluir las que se realizaran dentro del manejo habitual de la epilepsia como son el EEG o los niveles de FAEs). En un único paciente (0,51%) no se

realizaron ningún tipo de prueba complementaria, realizándose el estudio genético específico (secuenciación del gen *PRRT2*) en base a la presencia de antecedentes familiares compatibles con BFIS. La mayoría de los pacientes se habían estudiado mediante pruebas de neuroimagen (97,47%), fundamentalmente resonancia magnética (RM) craneal de 1,5 Tesla (86,41%) y estudio metabólico (91,91%). Otros estudios realizados comprendían: potenciales evocados visuales (19,69%), estudio cardiológico (12,12%), biopsia muscular para estudio de enfermedades mitocondriales (10,1%), potenciales evocados auditivos de tronco (8,08%), estudios neurofisiológicos (electromiograma, electroneurograma y potenciales somatosensoriales) (7,07%) y biopsia de piel para estudio de enfermedades lisosomales o del metabolismo energético (3,54%) entre otros. Diez pacientes (4,63%) asociaban lesiones del sistema nervioso central en neuroimagen, en 4 de los cuales se identificó una alteración genética causal. En muchos casos se duplicaron pruebas complementarias en el mismo paciente antes de comenzar el estudio genético específico, de forma que se repitieron RM craneales en 67 pacientes, estudios metabólicos en 11 pacientes (8 de los cuales incluían la realización de una nueva punción lumbar, de ellos 7 por encontrar hallazgos inespecíficos) o estudios neurofisiológicos en 2 pacientes.

Antes de la realización de un estudio genético específico de epilepsia, a 69 pacientes (34,85%) se les había realizado un estudio genético orientado a descartar diferentes trastornos del neurodesarrollo: cariotipo (33,33%), estudio de expansión del gen *FMR1* responsable del síndrome de X-frágil (12,12%), MLPA con salsas específicas para el diagnóstico molecular de DI/TEA (7,58%), y otras técnicas genéticas como array CGH (2,02%) o MLPA con salsa específica de síndrome de Rett (1,51%).

7.1.2.5. Características del estudio genético

La mediana de tiempo desde el comienzo de la epilepsia hasta el inicio del estudio genético específico fue de 36 meses con un amplio rango que abarca desde los 15 días hasta los 52 años. Esta tardanza asociada al hecho de que la mediana de tiempo de realización de las técnicas genéticas fuera de 12 meses (rango: 1-120), supuso una demora

de 5 años desde el debut de la epilepsia hasta el resultado de las pruebas genéticas (mediana de 60 meses).

La técnica genética más utilizada fue el estudio específico de un gen candidato (67,43%) mediante secuenciación Sanger +/- MLPA, ya fuera un solo gen (51,83%) o varios genes de manera sucesiva (15,59%). Los diferentes genes analizados incluyeron: *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN9A*, *PCDH19*, *GABRG2*, *CDKL5*, *FOXG1*, *MECP2*, *ARX*, *GRIN1*, *SLC2A1*, *SPTAN1*, *KCNQ2*, *KCNA2*, *STXBP1*, *MAGI2*, *LIS1*, *SRPX2* y *PRRT2*.

Las técnicas de secuenciación masiva mediante un panel multigénico se emplearon en el 31,65% de las ocasiones mientras que el análisis del exoma, tanto clínico como completo, se empleó menos frecuentemente (6,42% y 5,96% respectivamente). Otros procedimientos genéticos utilizados son: arrays CGH (17,43%), cariotipo (2,29%), estudio de síndrome de Angelman mediante la combinación de técnicas FISH, metilación y secuenciación de *UB3A* (1,83%) y MLPA con sala específica de síndrome de Rett (0,92%).

Tras el estudio genético se identificaron 61 alteraciones patogénicas (27,98%), 19 probablemente patogénicas (8,71%), 9 VUS (4,13%) y en 129 pacientes no se encontraron defectos genéticos o estos fueron considerados benignos o probablemente benignos (59,17%). Para diferenciar dos grupos en base a la presencia o no de alteración genética emplearemos el término "grupo con mutación" para referirnos a aquellos pacientes con cambios patogénicos o probablemente patogénicos y "grupo sin mutación" para aquellos con VUS, cambios benignos, probablemente benignos o en los que no se encontró ninguna variante.

En 15 casos, tras la identificación de una alteración genética en el paciente, se logró un diagnóstico en los familiares: 6 variantes en *PRRT2* (familiares con BFIS, epilepsia focal, y/o discinesia paroxística cinesiológica), 4 variantes en *GRIN2A* (familiares con diferente combinación de epilepsia, trastornos de aprendizaje y conductual), 2 variantes en *SCN1A* (familiares con epilepsia GEFS plus), 1 variante en *KCNQ2* (madre con BFNS) y 1 variante en *CACNA1A* (familiares con migraña hemipléjica).

Tabla III. Características epidemiológicas, clínicas y genéticas de los pacientes

Género		
N		218
Varones, n (%)		111 (50,92%)
Mujeres, n (%)		107 (49,08%)
Edad		
N		212
Mediana (RI)		9 (5-17,75)
>18 años, n (%)		52 (23,96%)
Éxitus		
N		217
Sí, n (%)		8 (3,69%)
No, n (%)		210 (96,75%)
Antecedentes familiares		
N		200
Sí, n (%)		45 (22,5%)
No, n (%)		155 (77,5%)
Comorbilidad médica		
N		216
Sí, n (%)		15 (6,94%)
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Trastorno visual grave ▪ Prematuridad ▪ Apneas centrales ▪ Colitis ulcerosa ▪ Hipersomnia ▪ Cardiopatía congénita ▪ Síndrome uveomeníngeo 	<ul style="list-style-type: none"> 4 (1,85%) 2 (0,92%) 2 (0,92%) 2 (0,92%) 1 (0,46%) 1 (0,46%) 1 (0,46%)
No, n (%)		201 (93,06%)
Lesión en sistema nervioso central, n (%)		10 (4,63%)
Comorbilidad psiquiátrica		
N		217
Sí, n (%)		35 (16,13%)
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Trastorno de conducta ▪ Trastorno de ansiedad 	<ul style="list-style-type: none"> 31 (14,28%) 4 (1,84%)

<ul style="list-style-type: none"> Trastorno depresivo 	4 (1,84%)
No, <i>n</i> (%)	182 (83,87%)
Trastorno de aprendizaje	
N	215
Leve, <i>n</i> (%)	47 (21,86%)
<ul style="list-style-type: none"> Retraso global desarrollo leve TDAH Trastorno lenguaje leve 	13 (6,04%) 40 (18,6%) 10 (4,65%)
Moderado-grave, <i>n</i> (%)	130 (60,47%)
<ul style="list-style-type: none"> Discapacidad intelectual <ul style="list-style-type: none"> Funcionamiento intelectual límite Leve Moderada Grave Profunda No especificada Retraso global desarrollo moderado-grave TEA Trastorno lenguaje grave (afasia, TEL) 	93 (43,25%) 11 (5,12%) 28 (13,02%) 13 (6,05%) 16 (7,44%) 2 (0,93%) 23 (10,69%) 37 (17,21%) 15 (6,98%) 8 (3,72%)
No, <i>n</i> (%)	38 (17,67%)
Exploración neurológica	
N	214
Anormal, <i>n</i> (%)	86 (40,19%)
<ul style="list-style-type: none"> Trastorno del movimiento <ul style="list-style-type: none"> Temblor Distonía/corea Hipotonía Espasticidad Dismorfia Trastorno de la coordinación motora 	30 (14,02%) 14 (6,54%) 20 (9,34%) 21 (9,81%) 16 (7,48%) 10 (4,67%) 1 (0,47%)
Normal, <i>n</i> (%)	128 (59,81%)
Portador de gastrostomía/traqueostomía	
N	215
Gastrostomía, <i>n</i> (%)	8 (3,72%)
Traqueostomía, <i>n</i> (%)	1 (0,05%)
Tipo de epilepsia	
N	218
Epilepsia focal idiopática/familiar, <i>n</i> (%)	33 (15,14%)
<ul style="list-style-type: none"> Focal idiopática 	16 (7,34%)

▪ BFIS	12 (5,51%)
▪ BFNS	2 (0,92%)
▪ Síndrome de Rett	2 (0,92%)
▪ Síndrome de Cri du Chat	1 (0,45%)
Epilepsia focal sintomática/criptogénica, <i>n</i> (%)	12 (5,51%)
▪ Criptogénica	8 (3,68%)
▪ Sintomática (esclerosis mesial, polimicrogiria)	4 (1,83%)
Epilepsia generalizada, <i>n</i> (%)	55 (25,23%)
▪ Ausencias	17 (7,79%)
▪ Generalizada idiopática	13 (5,97%)
▪ GEFS+	8 (3,68%)
▪ Síndrome de Doose	5 (2,29%)
▪ Síndrome de Angelman	1 (0,45%)
▪ OFD1	1 (0,45%)
▪ Inclasificable	10 (4,6%)
Encefalopatía epiléptica, <i>n</i> (%)	112 (51,37%)
▪ Inicio neonatal	11 (5,04%)
▪ Espasmos epilépticos	21 (9,63%)
▪ POCS/síndrome Landau-Kleffner	18 (8,26%)
▪ Síndrome de Dravet	14 (6,42%)
▪ Síndrome de Lennox-Gastaut	10 (4,59%)
▪ Discinética	4 (1,83%)
▪ Inclasificable	34 (15,6%)
Crisis febriles, <i>n</i> (%)	2 (0,92%)
Actividad epiléptica sin crisis, <i>n</i> (%)	4 (1,83%)
Inicio de epilepsia (o de actividad epiléptica)	
N	216
Mediana (RI)	16 (6-48)
Iniciada antes de los 2 años de edad, <i>n</i> (%)	125 (57,87%)
Regresión en el neurodesarrollo	
N	215
Regresión, <i>n</i> (%)	69 (32,09%)
Estancamiento, <i>n</i> (%)	29 (13,49%)
No, <i>n</i> (%)	117 (54,42%)
Tipos de crisis	
N	217
Media (DE)	1,58 (±0,76)

Tratamiento antiepiléptico en el momento del estudio

N	207
Sí, n (%)	183 (88,41%)
<ul style="list-style-type: none"> ▪ FAEs ▪ Dieta cetogénica ▪ Estimulador (vago, trigeminal) 	183 (88,41%) 8 (3,86%) 2 (0,97%)
No, n (%)	24 (11,59%)
Número de FAEs, media (DE)	1,88 (\pm 1,19)

Tratamientos antiepilépticos empleados

N	208
Sí, n (%)	204 (98,08%)
<ul style="list-style-type: none"> • FAEs • Corticoides • Cofactores (vitaminas B1,6,7, piridoxal-fosfato) • Dieta cetogénica • Inmunoglobulinas • Estimulador (nervio vago, trigeminal) • Cirugía de epilepsia 	204 (98,08%) 39 (18,75%) 29 (13,94%) 21 (10,09%) 4 (1,92%) 4 (1,92%) 1 (0,48%)
No, n (%)	4 (1,92%)
Número de FAEs, mediana (RI)	3,5 (2-8)
>2 FAEs, n (%)	138 (66,35%)

Control de crisis

N	214
Sí, n (%)	117 (54,67%)
No, n (%)	97 (45,33%)

Pruebas complementarias

N	198
Sí, n (%)	197 (99,49%)
<ul style="list-style-type: none"> • Neuroimagen <ul style="list-style-type: none"> ○ Ecografía transfontanelar ○ TAC craneal ○ RM craneal 1,5T ○ RM medular ○ RM craneal 3T ○ Espectroscopia ○ PET ○ SPECT ○ RM volumétrica ○ Neumoencefalografía 	193 (97,47%) 13 (6,56%) 31 (15,66%) 178 (89,89%) 3 (1,51%) 59 (29,79%) 28 (14,14%) 10 (5,05%) 3 (1,51%) 1 (0,51%) 1 (0,51%)

• Estudio metabólico	182 (91,91%)
○ Análisis <i>screening</i> metabólico*	173 (87,37%)
○ Estudio metabólico ampliado**	91 (15,66%)
○ Estudio metabólico ampliado LCR***	79 (39,89%)
• Biopsia muscular	20 (10,1%)
• Biopsia piel	7 (3,54%)
• Genética no específica	69 (34,85%)
○ Cariotipo	66 (33,33%)
○ Estudio expansión <i>FMR1</i> (X frágil)	24 (12,12%)
○ MLPA salsa trastorno neurodesarrollo	15 (7,58%)
○ Array CGH	4 (2,02%)
○ MLPA salsa síndrome de Rett	3 (1,51%)
○ FISH síndrome de Williams	1 (0,51%)
○ Secuenciación gen (<i>PHOX2b</i> , <i>LIS1</i> , <i>EPM2A</i>)	3 (1,51%)
○ Panel ataxias espinocerebelosas	1 (0,51%)
• Otros	
○ Potenciales evocados visuales	39 (19,69%)
○ Estudio cardiológico	24 (12,12%)
○ Potenciales evocados de tronco	16 (8,08%)
○ Estudios neurofisiológicos	14 (7,07%)
○ Ecografía abdominal	10 (5,05%)
○ Serie ósea	4 (2,02%)
○ Anticuerpos anti-superficie neuronal	3 (1,51%)
○ Test de latencias múltiples	2 (1,01%)
○ Estudio histológico cabello	1 (0,51%)
No, n (%)	1 (0,51%)
Duración del estudio	
N	216
Tiempo hasta inicio estudio (meses), mediana (RI)	36 (12-120)
Duración estudio genético (meses), mediana (RI)	12 (4-24)
Duración total (meses), mediana (RI)	60 (27-142)
Técnicas genéticas empleadas	
N	218
Cariotipo, n (%)	5 (2,29%)
MLPA salsa síndrome de Rett, n (%)	2 (0,92%)
Array CGH, n (%)	38 (17,43%)
Análisis secuencial gen candidato, n (%)	147 (67,43%)
Paneles multigénicos, n (%)	69 (31,65%)
Exoma clínico, n (%)	14 (6,42%)
Exoma investigación, n (%)	13 (5,96%)

Estudio Angelman (FISH, metilación \pm UB3A), n (%)	4 (1,83%)
Alteraciones genéticas	
N	218
Patogénicas, n (%)	61 (27,98%)
Probablemente patogénicas, n (%)	19 (8,71%)
VUS, n (%)	9 (4,13%)
Probablemente benignas, benignas o no alteración, n (%)	129 (59,17%)

* Análisis de screening metabólico: analítica sanguínea básica para el despistaje de las principales enfermedades congénitas del metabolismo, que suele incluir la determinación de ácido láctico, amonio, gasometría, ionograma, perfil renal, perfil hepático, glucosa y cetonemia

** Estudio metabólico ampliado: análisis en sangre y/o orina para el diagnóstico de enfermedades congénitas del metabolismo.

***Estudio metabólico ampliado (LCR): análisis en LCR, aparte de en sangre y/o orina para el diagnóstico de enfermedades congénitas del metabolismo.

N: número; **RI:** rango intercuartílico; **DE:** desviación estándar; **OFD1:** síndrome oro-facio-digital tipo 1; **PET:** tomografía por emisión de positrones; **SPECT:** tomografía por emisión de fotón único; **LCR:** líquido céfalo-raquídeo.

En la **tabla IV** se detallan las características clínicas de los pacientes de nuestra muestra

Tabla IV. Características clínicas de los pacientes (con variantes patogénicas, probablemente patogénicas o VUS)

Caso	Gen	Sexo	Edad ¹ dco	Inicio crisis	Tipo de epilepsia	Tipos de crisis	Aprendizaje. Conducta	FAEs	Otras características	Antecedentes	Tiempo total	Significado mutación	Defecto genético	Herencia
1	SCN1A	Varón	19	6	Síndrome de Dravet	CFM, CGTC, CGM, CGAt	DI no especificada. Trastorno de conducta no especificado /regresión	VPA, PB, CBZ, CZP, LEV, TPM, LCM, CLB, RTG	Ataxia	No	192 (180+12)	Patogénica	c.1121C>A,p. Ser374Tyr	De novo
2	SCN1A	Varón	2,5	9	Síndrome de Dravet	CPC, CGTC	Trastorno del lenguaje /no regresión	VPA, TPM	No	No	21 (18+3)	Patogénica	c.5779A>G,p. Arg1927Gly.	De novo
3	SCN1A	Mujer	24	9	Síndrome de Dravet	CFM, CPC, CGTC, CGM	DI moderada /regresión	VPA, CBZ, PB, VGB, TPM, GBP, LTG, OXC, LCM, RTG, LEV, ZNS, CLB, DC, corticoides	Espasticidad	No	243 (240+3)	Patogénica	c.3696T>A,p. Ser1231Arg	De novo
4	SCN1A	Varón	17	24	Síndrome de Dravet	CFM, CPC, CFETC, CGM	Funcionamiento intelectual límite, TDAH /regresión	ZNS, LCM, LEV, TPM, CLB, PRP	No	Madre, tíos y primos crisis febriles	124 (120+4)	Probab. patogénica	Heterocigosis (c.1458C>G)	Materna
5	SCN1A	Varón	38	12	Síndrome de Dravet	CFETC, CGCT, CGM, CGAu	DI leve. Trastorno de conducta no especificada /regresión	VPA, CZP	No	No	427 (420+7)	Probab. patogénica	c.5782C>G	Paterna
6	SCN1A	Mujer	55	NID	Síndrome de Dravet	NID	NID	NID	NID	NID	NID	Patogénica	Deleción intragénica SCN1A. (NID)	De novo

7	SCN1A	Varón	20	3	Síndrome de Dravet	CFM, CGTC, CGM, CGAu	DI grave /no regresión	LEV, PHT, LTG, ZNS	Distonía, ataxia, espasticidad. Leucomalacia periventricular.	Tío epilepsia no especificada	180 (168+12)	Patogénica	c.1880G>p.Arg627Lys	De novo
8	SCN1A	Mujer	1	4	Sospecha Dravet	CFETC, CGTC	DPM normal /no regresión	VPA, LEV, CLB	No	No	8 (6+2)	Probab. patogénica	c.1837C>T,p.Arg613Ter	De novo
9	SCN1A	Varón	44	5	Síndrome de Dravet	CGTC, CGM, espasmos	DI moderado /regresión	ZNS, LEV, VPA, CBZ, LTG, VGB, TPM, LCM	Ataxia.	No	450 (444+6)	Patogénica	c.5010_5013 delGTTTP,p.Phe1671Trsfs	De novo
10	SCN1A	Varón	19	3	Síndrome de Dravet	CFM, CFETC, CGTC	DI no especificada /no regresión	VGB, LEV, PB, TPM, VPA, CLB, CZP, LTG, PHT, ZNS, GBP, LCM, PRP	Ataxia.	Hermano y madre crisis febriles	159 (156+3)	Patogénica	c.2235delA/Lys745fs746X	De novo
11	SCN1A	Mujer	17	5	GEFS+	CFETC, CGTC, CGAu	NID /no regresión	VPA, TPM, LEV, CBZ, PB	No	No	206 (204+2)	Patogénica	c.5734C>T,p.Arg1912Ter	De novo
12	SCN1A	Varón	13	4	Síndrome de Dravet	CPC, CGTC, CGM	DI leve-moderada /regresión	VPA, CLB, TPM	Ataxia.	Padre GEFS+	126 (66+60)	Probab. patogénica	c.4285G>C,A1429P (SCN1A) c.2372A>C,p.G1791Pro (CDKL5)	SCN1A paterna, CDKL5 materna
13	SCN1A	Varón	47	6	Síndrome de Dravet	CGTC, CGM	DI no especificada /regresión	NID	Ataxia.	No	558 (552+6)	Patogénica	c.3985C>T,p.Arg1329ter	De novo
14	SCN1A	Mujer	36	3	Síndrome de Dravet	CFM, CGTC, CGM	DI no especificada /estancamiento	TPM, RFM, VPA, PB, PRM, CLB, CZP, TGB, LTG, VGB, GBP, OXC, PHT, ACZ, LEV, CBZ	Ataxia, espasticidad.	No	423 (420+3)	Patogénica	c.1130G>C,p.Arg377Pro	De novo
15	SCN1A	Mujer	39	6	GEFS+	CGTC	Funcionamiento intelectual /no regresión	VPA, CBZ, PB, PHT, PRM, VGB, LTG, LEV	Temblor	Familiares CTG y CGAu	450 (432+18)	Patogénica	c.4317T>G,p.Tyr1439Ter	De novo

16	PRRT2	Varón	2	6	BFIS	CFM, CPC	DPM normal /no regresión	VPA	No	Padre DPC, familiares rama paterna BFIS y DPC	4 (1+3)	Patogénica	c.649dupC,p. Arg217ProfsX	Paterna
17	PRRT2	Varón	3,5	4	BFIS	CFET, CGTC	NID /no regresión	VPA, B6, LEV	No	Padre DPC	40 (36+4)	Patogénica	c.121_122delG T,p.Val41ThrfsX	Paterna
18	PRRT2	Mujer	1	5	BFIS	CPC, CFHipom.	DPM normal /no regresión	OXC	No	Madre BFIS	6 (1+5)	Patogénica	c.649dupC,p. Arg217ProfsX	Materna
19	PRRT2	Varón	1	4	BFIS, DPC	CFM, CPC	DPM normal /no regresión	LEV	DPC	Padre DPC	5 (1+4)	Patogénica	c.649dupC,p. Arg217ProfsX	Paterna
20	PRRT2	Varón	7,5	4	BFIS	CGTC	DPM normal /no regresión	VPA	No	Padre y hermanos BFIS	60 (42+18)	Patogénica	c.121_122delG T,pVal41ThrfsX	Paterna
21	PRRT2	Varón	8,5	7	BFIS	CGTC	TDAH /no regresión	VPA	No	Padre y hermanos BFIS	90 (72+18)	Patogénica	c.121_122delG T,pVal41ThrfsX	Paterna
22	PRRT2	Varón	11	8	BFIS	CGTC	TDAH /no regresión	CBZ	No	Padre y hermanos BFIS	102 (84+18)	Patogénica	c.121_122delG T,pVal41ThrfsX	Paterna
23	PRRT2	Varón	5,5	2	BFIS, DPC	CFM	DI leve /no regresión	LEV, PHT, PB, B1, B6, piridoxal, OXC	Ataxia. DPC	Padre epilepsia lactante	65 (60+5)	Patogénica	c.649dupC p.Arg21ProfsX	Paterna
24	PRRT2	Mujer	14,5	5	BFIS	CFM, CFETC	TDAH /no regresión	VPA, PHT	No	Padres BFNS y DPC	121 (1+120)	Patogénica	c.649dupC p.Arg21ProfsX	Paterna
25	PRRT2	Varón	37	248	Crisis generalizad,	CGTC	DPM normal /no regresión	OXC, LEV	No	No	126 (120+6)	Patogénica	c.649dupC p.Arg21ProfsX	NID
26	PRRT2	Mujer	1	10	BFIS	CFM, CPC	NID /no regresión	B6, LEV	No	Padre BFIS, DPC. Hermana	6 (1+5)	Patogénica	c.649_650insC, p.Arg217ProfsX	Paterna
27	KCNQ2	Mujer	2,5	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CGM, espasmos, apneas	RGD grave /estancamiento	VPA, VGB, PB	Espasticidad. Apneas centrales.	Desconocidos	23 (6+17)	Patogénica	c.602G>A,p. Arg201His	NID
28	KCNQ2	Mujer	6	RN	BFNS	CGTC, CGT	RGD leve /no regresión	LEV	No	Madre BFNS	11 (10+1)	Patogénica	c.2073delT,p.V al692SerfsX220	Materna
29	KCNQ2	Mujer	5	RN	Epilepsia mioclónica precoz	CFM, CFETC, CGM	DI grave /estancamiento	PB, CZP, LEV, corticoides, VPA, CLB, B6	Corea, distonía	Desconocidos	38 (2+36)	Patogénica	c.602G>A,p. Arg201His	De novo

30	KCNQ2	Mujer	2,5	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CFM, CPC, CFETC, CGT, apneas	RGD grave /estancamiento	LEV, PB	Corea, distonía, crisis oculogiras. Apneas	No	24 (12+12)	Probabl. patogénica	c.691G>A,p. Glu231Lys	De novo
31	KCNQ2	Varón	2	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CGT, CGC	RGD grave /estancamiento	PB, LEV, B6, piridoxal, B1, MDZ, CZP, TPM, VGB, PHT, corticoides, DC, CBZ	Corea, distonía	No	6 (2+4)	Patogénica	c.881C>T,p. Ala 294Val	De novo
32	KCNQ2	Mujer	8,5	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CGTC, CGC, CGM, CGT, espasmos	RGD moderado-grave /estancamiento	PB, PHT, VPA, OXC, LEV, ZNS	Hipotonía. Trastorno visual grave.	No	78 (72+6)	Patogénica	c.810G>T,p. Trp 270Cys	De novo
33	KCNQ2	Varón	3,5	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CGT, CGM, espasmos	RGD grave /estancamiento	PB, MDZ, lidocaina, LEV, CZP, VPA; DC, VGB, B6, piridoxal, B1	Hipotonía.	No	8 (2+6)	Patogénica	c.601C>T,p. Arg201Cys	De novo
34	KCNQ2	Varón	2	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CFM, CGT	RGD moderado /no regresión	PB, B6, OXC, TPM, PHT, LEV	Hipotonía	No	19 (2+17)	Patogénica	c.803T>C,p. Leu268Pro	De novo
35	GRIN2A	Varón	9,5	72	Epilepsia benigna atípica	CPC	DI leve, TDAH /no regresión	VPA, LEV, ESM	Malformación Chiari tipo 1.	Padre epilepsia (no especificada)	39 (30+9)	Probabl. patogénica	c.2458G>A,p. Val820Ile	Paterna
36	GRIN2A	Varón	2,5	48	Epilepsia focal	CFM, CFETC	TDAH /no regresión	LEV, LCM, OXC, VPA, CLB	No	No	27 (24+3)	Patogénica	c.545delG,p. Glu182AsnFsX	De novo
37	GRIN2A	Varón	8	72	Epilepsia focal idiopática	No crisis	Trastorno lecto-escritura, TDAH /no regresión	No	No	Madre asintomática, Tío epilepsia	17 (11+6)	Probabl. patogénica	c.3228C>A,p. Asn 1076Lys	Materna
38	GRIN2A	Mujer	7,5	48	Epilepsia benigna atípica (POCS)	CFM, CPC, CFETC, CGA†	TDAH /regresión	DZP, PHT, LEV, VPA, ZNS, PRP, STM, CLB, corticoides	No	Padre CF	40 (36+4)	Probabl. patogénica	c.3228C>A,p. Asn1076Lys	Paterna

39	GRIN2A	Varón	11	48	POCS	CFM	DI leve, trastorno del lenguaje, TDAH /regresión	OXC, VPA, CLB, LEV, ESM, corticoides	No	Madre asintomática	88 (84+4)	Probab. patogénica	c.135insT,p.Val 452CysfsX11	Materna
40	PCDH19	Mujer	19	9	Síndrome de Dravet	CGTC	Funcionamiento intelectual límite, TEA. Trastorno conducta no especificado /no regresión	VPA, LEV, CZP, PRM, PB, CBZ	No	No	189 (186+3)	Probab. patogénica	c.866T>C, p.Phe289Ser	De novo
41	PCDH19	Mujer	22	6	EE inclasificable	CFM, CPC, CFETC	DI no especificada /estancamiento	PB, VPA, CLB, LEV, CBZ, CZP, LTG	Colitis ulcerosa.	No	266 (248+18)	Patogénica	"Mutación puntual de novo" (NID)	De novo
42	PCDH19	Mujer	2,5	16	Síndrome de Dravet	CGTC, CGT	RGD leve /no regresión	VPA, LEV, LCM	No	No	14 (12+2)	Patogénica	c.83delC,p.Ser 28Trpfs	De novo
43	PCDH19	Mujer	23	6	EE inclasificable	CPC, CFETC	DI no especificada /no regresión	NID	Colitis ulcerosa	No	268 (264+4)	Patogénica	"deleción gen completo en heterocigosis"	De novo
44	CDKL5	Varón	2	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CFM, espasmos	RGD grave /estancamiento	LEV, piridoxal, B1, VPA, PB, CBZ, OXC, ZNS, corticoides, CLB, LTG, LCM, TPM, VGB, RFM, DC	Corea, distonía	No	16 (2+14)	Patogénica	c.52_53insT,p.Val19CysfsX3	De novo
45	CDKL5	Mujer	1,5	3	Espasmos epilépticos	CGT, espasmos	RGD moderado /regresión	Corticoides, VGB, VPA, ZNS, RFM, B6, LEV, PB, B1, tiamina, DC	Hipotonía.	No	14 (2+12)	Probab. patogénica	c.2459A>G,p. Glu820Gly	Materna sesgo metilación
46	CDKL5	Mujer	17	6	Síndrome de Lennox-Gastaut (previo West)	CGT, CGM, CGAt, espasmos	DI grave /regresión	VGB, VPA, CZP, B6, TPM, LTG, CLB, LEV, ZNS, RFM, PRM, DC	Hipotonía	No	180 (144+36)	Patogénica	c.337G>A,p. Cys126Tyr	De novo

47	KCNA2	Mujer	2,5	21	EE inclasificable	CGM, CGAu	RGD leve /no regresión	VPA, CLB, LEV, B6, ZNS, ESM, LTG, CZP	Ataxia, temblor.	Madre y hermano crisis febriles	12 (8+4)	Patogénica	c.8690G>A,p. Arg297Gln (GOF)	De novo
48	KCNA2	Mujer	6	10	Síndrome de Dravet	CPC, CFETC, CGTC	RGD moderado. Trastorno de conducta no especificado /regresión	VPA, LEV	Ataxia, temblor.	No	60 (36+24)	Patogénica	c.1214C>T,p.Pr o405Leu (LOF)	De novo
49	KCNA2	Varón	7	6	EE inclasificable	CFM, CFETC, CGTC	DI no especificada. Trastorno de conducta no especificado /no regresión	VPA, PB	Ataxia, teblor.	No	66 (42+24)	Patogénica	c.890G>A,p.Ar g297Gln	De novo
50	SLC2A1	Mujer	15	2	EE discinética	CFM, CGT, CGAu, espasmos	DI grave / estancamiento	CLB, ESM, PB, GBP, LCM, LTG, LEV, VPA, VGB, DC	Distonía, corea, espasticidad.	No	134 (132+2)	Patogénica	c.115-2A>G (sitio aceptor del <i>splicing</i>)	De novo
51	SLC2A1	Varón	16	4	EE inclasificable	CGTC, CGAu	DI no especificada. Trastorno de conducta no especificado /estancamiento	LTG, LEV, CBZ, ZNS, VPA, ESM	Ataxia, temblor, disartria.	No	189 (186+3)	Patogénica	c.847C>T,p. Gln283Ter	NID
52	ARX	Varón	7	10	EE discinética	CGT, espasmos	RGD grave /estancamiento	Corticoides, LEV, PB, VPA, TPM, VGB, OXC, ZNS, LTG, CLB, RFM, DC	Hipotonía, corea, distonía, trastorno visual grave.	No	72 (48+24)	Patogénica	c.1135C>T,p. Arg379Cys	De novo
53	ARX	Varón	Éxitus	RN	EE inclasificable	CFM, CGM, espasmos	RGD grave /estancamiento	VPA, PHT, LEV	Espasticidad.	NID	130 (22+108)	Patogénica	c.1956G>A,p. Gly66Ser	De novo
54	GRIN1	Mujer	5	6	EE discinética	CGT, espasmos	RGD grave /no regresión	VPA, LEV, ZNS, CLB	Corea, distonía, crisis oculogiras Disautonomía	No	54 (48+6)	Patogénica	c.2504C>A,p. Ala835Asp	De novo

55	GRIN1	Varón	5	RN	Epilepsia mioclónica precoz	CGT, CGM	RGD grave /estancamiento	PB, TPM, VPA, LEV, NZP, RFM	Corea, distonía, espasticidad. Miocardiopat. hipertrófica. Trastorno visual Disgenesia cuerpo calloso, atrofia supratentorial.	No	63 (60+3)	Patogénica	c.1852G>A; p.Glu618Lys	NID
56	STXBP1	Varón	4	RN	Síndrome de Ohtahara	CFM, CGM	NID /estancamiento	NID	Corea, distonía, crisis oculogiras	NID	22 (4+18)	Probab. patogénica	c.1249+2T>C	De novo
57	STXBP1	Mujer	4,5	RN	EE inicio precoz (neonatal)	CGTC, espasmos	RGD grave /estancamiento	PB, LEV, VPA	Hipotonía. Distonía	No	31 (1+30)	Patogénica	c.1216C>T, p.Arg406Cys	De novo
58	CNKSR2	Varón	6,5	30	POCS	CPC, CFETC	DI grave, disfasia, TDAH /estancamiento	LEV, VPA, CLB, ESM, STM, LTG, DC	No	No	48 (24+24)	Patogénica	del10kb ChrX:21609392-21619786	De novo
59	CNKSR2	Varón	13	36	POCS	CFM	DI no especificada, TDAH /regresión	VPA, CLB, corticoides, LEV, OXC, ESM	No	NID	228 (132+96)	Patogénica	c.246_247delA G, p.Thr82Thrfs	De novo
60	SYNGAP	Varón	36	18	EE inclasificable	CGTC, CGM, CGAu	DI no especificada /no regresión	NID	Temblor.	No	408 (360+48)	Patogénica	c.333_334insG, p.Lys114Glu fs Ter38	De novo
61	SYNGAP	Varón	6	37	EE inclasificable	CGAu	DI moderada, afasia / no regresión	VPA	Ataxia, temblor.	No	8 (2+6)	Probabl. patogénica	c.1913+5G>A	De novo
62	KANSL1	Varón	5	21	POCS	CFM, CGTC, CGT	RGD grave, TDAH /estancamiento	VPA, LEV, CLB	Dismorfia	Hermano y tía paterna EE	53 (48+5)	Patogénica	del59.79-581.55Kb chr17:44216013-44275738	De novo
63	KANSL1	Varón	5	21	POCS	CFM, CGTC, CGT	RGD grave, TDAH /estancamiento	VPA, LEV, CLB	Dismorfia	Hermano y tía paterna EE	53 (48+5)	Patogénica	del59.79-581.55Kb chr17:44216013-44275738	De novo

64	MECP2	Mujer	14	24	Síndrome de Rett	CFM, CPC, CFETC	RGD grave. Trastorno de conducta no especificado /regresión	OXC, ZNS, LTG, LEV, CLB, ACZ, VPA, TPM	Espasticidad	No	27 (24+3)	Patogénica	"Mutación puntual de novo" (NID)	De novo
65	MECP2	Mujer	4	30	Síndrome de Rett	CPC	DI no especificada, afasia. Trastorno de conducta no especificado /regresión	TPM	Ataxia, alteración grave de la coordinación motora.	No	6 (3+3)	Patogénica	c.1280_1335del56pb,p.Asp427GlyfsTer39	De novo
66	UB3A	Mujer	5	12	Síndrome de Angelman	CGM, CGAu	RGD grave /no regresión	VPA, ZNS, ESM, CLB	Ataxia, temblor.	No	33 (21+12)	Patogénica	"Variante en heterocigosis"	De novo
67	ALG13	Mujer	40	3	Síndrome de West	CPC, CGT, CGAt, espasmos	DI no especificada /regresión	VPA, TPM, FBM, LEV, CLB, CNZ, PB, VGB, LTG, RFM corticoides	No	No	469 (463+6)	Patogénica	c.320A>G,p. Asn107Ser	De novo
68	SCN1B	Varón	7	20	GEFS+	CGAu, CGTC	TDAH.Trastorno de conducta no especificado /no regresión	VPA	No	No	64 (60+4)	Probabl. patogénica	c.632G>A,p. Cys211Tyr	Materna
69	DCX	Mujer	7	16	Síndrome de Lennox Gastaut	CFM, CGTC, CGT, CGAt, CGAu	DI moderada /regresión	RFM, LTG, ZNS, VPA, LEV, PB, LTG, cirugía (callosotomía)	Lisencefalia	No	54 (30+24)	Patogénica	c.744delT,p.Ser248ArgfsX23	De novo
70	DNM1	Mujer	4,5	12	EE discinética	CPC, espasmos	RGD grave /estancamiento	B6, VPA, VGB, LTG, ZNS, RFM, CLB, LEV	Hipotonía, corea.	No	23 (18+5)	Probabl. patogénica	c.137C>G,p. Ser46TRp	De novo
71	Del 5p	Mujer	4	9	Síndrome Cri du Chat	CPC	DI grave /no regresión	VPA	Hipotonía. Cardiopatía compleja	No	3 (2+1)	Patogénica	46XX,der(5)t(5,8)(p15.1;p21.1) pct	Paterna

72	OFD1	Varón	21	24	Síndrome oro-facio-digital tipo 1	CGT, CGM, CGC	DI leve, TDAH. Trastorno de conducta no especificado /estancamiento	VPA, CZP, ESM, PRP, TPM, LEV, OXC, LTG, FBM, PHT, PB, CBZ, VGB, GBP, PGB, ZNS, RFM, ESM, RTG, BRV	Dismorfia	No	232 (228+4)	Patogénica	c.2489-2-2489delAGC en región aceptora de <i>splicing</i>	Materna
73	RELN	Varón	5,5	48	Síndrome de Doose	CGTC, CGM	TDAH /no regresión	VPA, ESM	No	Tía paterna epilepsia	21 (18+3)	Probabl. patogénica	c.10288A>C,p. Thr3430Pro	Paterna
74	CACNA1A	Varón	12	36	EE inclasificable	CGTC	DI grave, TDAH /regresión	VPA, CBZ	No	Madre y tía migraña	107 (102+5)	Probabl. patogénica	c.2638C>T,p. Arg880Trp	Materna
75	TBL1XR1	Varón	12,5	24	Epilepsia generalizad	CGTC	DI leve, TDAH /no regresión	LEV, VPA	No	No	120 (84+36)	Patogénica	del87-1,16Mb chr3:176720110-177692976	De novo
76	POLG	Varón	13	36	POCS	CFM, CPC, CFETC	DI leve /no regresión	VPA, LEV, ESM, CBZ, CLB	Antecedente prematuridad (28 semanas).	No	102 (96+6)	Patogénica	c.156_158dup GCA,p.Gln52 dup (materna) c.2492A>G,p.Tyr831Cys (paterna)	Materna y paterna
77	Dup.15q	Varón	6	36	Epilepsia focal	No crisis	DI leve, TEA /no regresión	VPA	No	Hermanos con TEA y DI	66 (30+36)	Patogénica	dup5,86-6,39Mb chr15q11.1.q13:1522835886-285131662	De novo
78	Dup. 9q21.33-q22.1	Varón	4	3	Epilepsia generalizad.	CGAu	RGD leve /no regresión	LTG, ZNS	No	No	43 (31+12)	Probabl. patogénica	dup 2,92 Mb-3,11 Mb 9q21.33-q22.1 ¹³	De novo (NID paterna)
79	GRIN2B	Mujer	4,5	42	Anomalías epilépticas multifocales	No crisis	RGD moderado /no regresión	No tratamiento antiepiléptico	Hipotonía, dismorfia. Artrogriposis.	No	54 (6+48)	Probabl. patogénica	c.1451G>A,p. Gly484Asp	De novo

80	Trans. chr 15	Varón	16	36	Epilepsia generalizad.	CGTC, CGT	DI profunda, TEA /no regresión	VPA, LCM	Espasticidad. Malformación fosa posterior.	Adopción	2 (1+1)	Patogénica	"Translocación cromosoma 5" (NID)	NID
81	IQSEC2	Mujer	11	54	EE inclasificable	CFM, CFETC, CPC, CGTC	RGD moderado /estancamiento	VPA, LCM	Ataxia	No	48 (30+18)	VUS	c.1552C>T,p. Leu518Phe	Materna
82	SCN4A	Mujer	1,5	8	Espasmos epilépticos	Espasmos	RGD leve /regresión	B6, ZNS	No	No	8 (5+3)	VUS	c.3877G>A,p. Val1293Ile	NID
83	KCNMA1	Mujer	11	11	EE inclasificable	CFM, CFHipomo- toras, CPC, CGM	DI leve. Trastorno de conducta no especificado /no regresión	VPA, LEV, LCM, PHT, TPM, CZP, CBZ, VGB, OXC, corticoides	Hipotonía	No	120 (36+84)	VUS	c.2984A>G,p. Asn995Ser	De novo
84	ASPM	Mujer	2,5	6	Espasmos epilépticos	Espasmos	RGD moderado /no regresión	B6, VGB	No	No	21 (10+11)	VUS	Heterocigosis compuesta: c.5000G>A,p. Arg1667His (variante 1) c.9578G>A,p. Arg3193His (variante 2)	Variante 1 materna, variante 2 paterna
85	CHRNA4	Mujer	2	3	EE inclasificable	CGC, CGM, espasmos	RGD leve /regresión	B6, piridoxal, B1, LEV, ZNS, VPA, DC, CLB, OXC, LCM	Hipotonía.	No	15 (3+12)	VUS	c.860T>C, p.Val287Ala	De novo
86	Dup CNTN6 y GPRIN1	Varón	15,5	24	Epilepsia de origen estructural (esclerosis mesial)	CPC, CGTC	DI leve, TDAH. Trastorno de conducta no especificado /no regresión	LTG	Adopción. Antecedente prematuridad (31 semanas).	NID	132 (120+12)	VUS	dup 1,175Kb Chr10: 46949255- 48124262 ⁴	NID
87	Del 3q24	Varón	10	84	Epilepsia generalizad. idiopática	CGTC, CGAu	Funcionamiento intelectual límite TDAH /no regresión	VPA, LTG, LEV	No	No	28 (24+4)	VUS	del975.06Kb- 1.06Mb chr3:14718190 3-148156997.	Materna

88	Dup 11q24.3	Varón	13,5	24	POCS	CFM, CPC, CGAu, CGT	DI severa, TEA /regresión	Pb, VPA, ZNS, Ig, ACZ, CLB, LEV, ESM, corticoides, TPM, LTG, STM,	Espasticidad	Adopción	132 (126+6)	VUS	dup180,85- 239,65Kb chr11:1286929 66-128843817 ⁵	NID
89	Dup 15q11.2	Mujer	2,5	4	Espasmos epilépticos	Espasmos	RGD moderado- grave /estancamiento	ACTH, VGB; ZNS, VPA; TPM, LTG, B6, PRP; LEV, OXC, RUF, LAC, DZP, DC	Hipotonía, corea, disonía.	No	14 (2+12)	VUS	dup263.20kb- 23.72Mb chr15:22,822,0 19-23,085,219 ⁷	Paterna

(1) Edad del paciente en el momento del diagnóstico genético. (2) Duplicación que incluye 24 genes OMIM (*TUB6PCS, YCFIP1, NIPA2, MKRN3, MAGEL2, NDN, PWRN2, PWRN1, C1SGF2, SNRPN, PARS, SNORD115-1, UB3A, ATP10A, GABRB3, GABRA1, GABRG3, OCA2, HERC2*). (3) Duplicación que Incluye 10 genes OMIM (*ISCA1, ZCCHC6, GAS1, DAPK1, CTSL, CDK20, SPIN1, NXNL2, S1PR3, SHC3*). (4) Duplicación que incluye 4 genes OMIM (*SYT15, GPRIN1, CNTNT6 y PPYR1*). (5) Duplicación que incluye 4 genes OMIM (*KCNJ1, KCNJ5, TP53A1P1, ARH6P32*). (6) Duplicación que incluye 4 genes OMIM (*TUBGCP5, CYFIP1, NIPA2, NIPA1*)

T1: tiempo hasta solicitar el estudio genético; **T2:** tiempo de realización del estudio hasta obtener el resultado genético; **POCS:** punta onda continua durante el sueño; **GEFS+:** epilepsia generalizada con crisis febriles plus; **VUS:** variantes de significado incierto; **NID:** no información disponible; **EE:** encefalopatía epiléptica; **BFIS:** epilepsia benigna del lactante; **BFNS:** epilepsia neonatal benigna; **DPC:** discinesia paroxística cinesiogénica; **GOF:** ganancia de función; **LOF:** pérdida de función; **CFM:** crisis focal motora; **CFC:** crisis focal clónica; **CPC:** crisis parcial compleja; **CFETC:** crisis focal con evolución a tónico-clónica; **CGTC:** crisis generalizada tónico-clónica; **CGM:** crisis generalizada mioclónica; **CGT:** crisis generalizada tónica; **CGC:** crisis generalizada clónica; **CGAu:** crisis generalizada tipo ausencia; **CGAt:** crisis generalizada atónica; **VUS:** variante de significado clínico incierto; **DI:** discapacidad intelectual; **TAH:** trastorno por déficit de atención con hiperactividad; **TEA:** trastorno del espectro autista, **RGD:** retraso global del desarrollo; **DPM:** desarrollo psicomotor; **VPA:** ácido valproico; **PB:** fenobarbital; **CBZ:** carbamazepina; **CZP:** clonazepam; **LEV:** levetiracetam; **TPM:** topiramato; **LCM:** lacosamida; **CLB:** clobazam; **RTG:** retigabina; **VGB:** vigabatrina; **GBP:** gabapentina; **LTG:** lamotrigina; **ZNS:** zonisamida; **PRP:** perampanel; **DC:** dieta cetogénica; **PHT:** fenitoína; **RFM:** rufinamida; **PRM:** primidona; **TGB:** tiagabina; **OXC:** oxcarbazepina; **ACZ:** acetazolamida; **MDZ:** midazolam; **ESM:** etosuximida; **DZP:** diazepam; **STM:** sultiame; **NZP:** nitrazepam; **FBM:** felbamato; **PGB:** pregabalina; **BRV:** brivaracetam

7.2. CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS (GENOTIPO)

Se identificaron 89 pacientes con variantes en 39 genes diferentes que se consideraron patogénicas, probablemente patogénicas (80 pacientes) o VUS (9 pacientes): *SCN1A* (en 15 pacientes), *PRRT2* (en 11 pacientes), *KCNQ2* (en 8 pacientes), *GRIN2A* (en 5 pacientes), *PCDH19* (en 4 pacientes), *CDKL5* (en 3 pacientes), *KCNA2* (en 3 pacientes), *SLC2A1* (en 2 pacientes), *ARX* (en 2 pacientes), *GRIN1* (en 2 pacientes), *STXBP1* (en 2 pacientes), *CNKSR2* (en 2 pacientes), *SYNGAP* (en 2 pacientes), *KANSL1* (en 2 pacientes), *MECP2* (en 2 pacientes); casos aislados con defectos en *UB3A*, *ALG13*, *SCN1B*, *DCX*, *DNM1*, *OFD1*, *RELN*, *CACNA1A*, *TBL1XR1*, *POLG*, *GRIN2B*, *IQSEC2*, *SCN4A*, *KCNMA1*, *ASPM* y *CHRNA4*, así como diversas duplicaciones (en 4 pacientes), deleciones (en 2 pacientes) o translocaciones (en 1 paciente). A continuación se describen las características clínico-genéticas principales de los pacientes. En el **anexo 5** se detallan las características de las alteraciones genéticas.

7.2.1. Alteraciones genéticas patogénicas o probablemente patogénicas

- El gen *SCN1A* (Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 1) codifica una de las subunidades de los canales de sodio, fundamentales en la generación y propagación de los potenciales de acción a nivel neuronal y muscular. Los defectos en este gen producen un aumento de la excitabilidad neuronal (por inhibición de las neuronas inhibitorias) siendo la causa en el 80-90% de los casos de síndrome de Dravet, aparte de estar relacionados con otras epilepsias de diferente gravedad (EE, crisis febriles, GEFS+) y con otros trastornos neurológicos no epilépticos como la migraña hemipléjica familiar. Es el gen en el que más frecuentemente se identificaron variantes en nuestra serie, de forma que hasta en 15 pacientes (casos 1-15) se identificaron variantes patogénicas (14/15 variantes en heterocigosis, 1/15 deleción intragénica), siendo heredadas en 3 de ellos (20%) mediante herencia autosómica dominante. El fenotipo más común fue el síndrome de Dravet (12/15: 80%), seguido de GEFS+ (2/15) y una paciente que por ser menor de dos años no se pudo confirmar el diagnóstico. Aunque en la mayoría de los

casos la sospecha diagnóstica-genética fue alta ya que la técnica genética más empleada fue la secuenciación Sanger dirigida (13/15: 86,67%), destaca la edad avanzada de los pacientes al diagnóstico siendo adultos en más de la mitad (9/15: 60%) de los casos, con una media al diagnóstico de 24,33 años (rango 1-55 años)^{43,59,61}.

- El gen *PRRT2* (Proline-Rich Transmembrane Protein 2) codifica una proteína involucrada en la liberación presináptica calcio-dependiente de diferentes neurotransmisores. Las alteraciones en heterocigosis en dicha proteína provocan una situación de hiperexcitabilidad neuronal, lo que es causa de un espectro (con elevada variabilidad intrafamiliar) de trastornos paroxísticos que incluyen: BFIS (explican hasta el 80-95% de los casos), discinesia paroxística cinesiológica (explican el 80% de los casos), convulsiones infantiles con coreoatetosis así como otros trastornos neurológicos episódicos como la migraña hemipléjica o distonías/discinesias paroxísticas. En los 11 pacientes de nuestra serie (casos 16-26) con defectos en este gen la sospecha diagnóstica fue alta ya que en todos ellos se llegó al diagnóstico molecular por análisis directo del gen. Aunque sólo cuatro de los pacientes pertenecían a la misma familia, la mayoría de los casos afectados compartían la misma mutación, de forma que se identificaron tres alteraciones genéticas en 11 pacientes. Todos ellos presentaban un cuadro clínico de BFIS (uno de ellos presentó también una crisis generalizada a los 37 años) y en los casos en los que se pudo hacer el estudio de segregación familiar se comprobó la misma alteración genética en aquellos progenitores que habían presentado BFIS y/o discinesia paroxística cinesiológica¹⁵⁰.
- El gen *KCNQ2* (Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 2) codifica una de las subunidades de los canales de potasio inhibidores de la excitabilidad neuronal. Las alteraciones en el mismo suelen producir una pérdida de función del canal, lo que provoca diferentes epilepsias de inicio en el primer mes de vida que comprenden un espectro amplio desde BFNS (76-81% de las mismas) hasta EEs con patrón EEG de brote supresión o multifocal. De los 8 pacientes (casos 27-34) de nuestra muestra que presentaban variantes patogénicas en heterocigosis, sólo uno de ellos presentaba BFNS

(posible sesgo muestral debido a que la mayoría de los estudios genéticos incluidos abordaban casos EEs). El resto presentaban una EE de inicio neonatal con crisis polimorfas (una combinación de crisis focales, tónicas, mioclónicas, espasmos y dos de ellos apnea ictal) y desarrollo posterior de retraso psicomotor moderado-grave. En tres de ellos se observaba un trastorno del movimiento coreico-distónico y en dos con apneas centrales no ictales¹⁵¹.

- El gen *GRIN2A* (Glutamate Ionotropic Receptor NMDA type subunit 2A) codifica la subunidad NR2A del receptor NMDA activado por glutamato, implicado en el desarrollo neuronal, la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria. Las alteraciones en este gen implican una menor inhibición del canal por Zn^{+2} y Mg^{+2} lo que conlleva un aumento de la excitabilidad neuronal. Variantes patogénicas explican entre el 9 y el 20% de los casos del síndrome de afasia-epilepsia y también se han relacionado con EEs de inicio precoz, DI sin epilepsia y trastornos del lenguaje graves con o sin epilepsia asociada (afasia adquirida, agnosia auditiva, disartria o dispraxia). El fenotipo de los 5 pacientes de nuestra serie (casos 36-40) era homogéneo: TDAH, epilepsia focal iniciada a los 4-7 años (dos con actividad epiléptica sin crisis), 3 de ellos con EE tipo POCS (2 evolucionaron desde epilepsia "benigna" de la infancia). En tres de ellos, la mutación era heredada con una expresividad muy variada: desde familiares asintomáticos a diferentes tipos de epilepsias así como trastornos del lenguaje o psiquiátricos ^{43,102,124,152}.
- El gen *PCDH19* (protocadherina 19) codifica una proteína de la familia de las supercadherinas, las cuales juegan un papel fundamental en la adhesión celular y en el desarrollo del sistema nervioso central. Debido al particular tipo de herencia, sólo las mujeres con defectos en heterocigosis o varones con mosaicismo se encuentran afectados³⁰. Cambios patogénicos en este gen se han relacionado con diferentes grados de epilepsia, DI y TEA. Aunque en muchas ocasiones presentan un fenotipo clínico de EE tipo síndrome de Dravet¹⁵³, como dos de las pacientes de nuestra serie (casos 40 y 42), en otras ocasiones desarrollan una EE menos característica con predominio de crisis focales, como en las otras dos pacientes de nuestra serie (casos 41 y 43). Las cuatro

pacientes iniciaron su epilepsia antes de los dos años de edad y mostraron un trastorno cognitivo aparentemente no regresivo.

- El gen *CDKL5* (Cyclin-Dependent Protein Kinase Like 5) localizado en el cromosoma X codifica una de las proteínas involucradas en la transcripción del ácido ribonucleico (ARN) mensajero así como en la diferenciación neuronal y estabilidad sináptica. Es uno de los primeros genes involucrado con EEs. El primer fenotipo asociado a variantes patogénicas en heterocigosis fue el de pacientes con síndrome de Rett (no regresivos), aunque en los últimos años también se han descrito en lactantes, generalmente menores de tres meses, con espasmos y/o crisis tónicas que asocian cuadros graves de hipotonía y retraso psicomotor. Los tres pacientes de nuestra serie (casos 44-46) presentaban retraso global del desarrollo moderado-grave junto a espasmos de inicio precoz (entre el primer y el sexto mes de vida) y eventual evolución a síndrome de Lennox-Gastaut en uno de ellos¹⁵⁴.
- El gen *KCNA2* (Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 2) codifica el canal de potasio Kv1.2, que contribuye a la repolarización de la membrana neuronal tras los potenciales de acción. Las variantes patogénicas en heterocigosis de este gen provocan una EE de inicio en los dos primeros años de vida que asocia trastornos del lenguaje, conductuales, así como síntomas de afectación cerebelosa. Existe una clara relación genotipo-fenotipo, de forma que las diferentes características fisiopatológicas de las mutaciones asocian diferentes características clínicas: las mutaciones *gain-of-function* (GOF) suelen asociarse a una epilepsia generalizada con peor pronóstico cognitivo y frecuente fármaco-resistencia; mientras que las mutaciones *loss-of-function* (LOF) suelen corresponderse a epilepsias focales con frecuente activación en sueño (riesgo de desarrollo de POCS). En nuestra serie 3 pacientes presentaban variantes en heterocigosis en *KCNA2*, de los cuales 2 presentaban mutaciones LOF (casos 48-49) y un cuadro clínico de EF con marcada susceptibilidad a la fiebre por lo que fueron diagnosticados inicialmente de síndrome de *Dravet-like*, mientras que la paciente con mutación GOF (caso 47) presentaba una epilepsia generalizada, ataxia y retraso global

del desarrollo moderado¹⁵⁵⁻¹⁵⁶.

- EL gen **SLC2A1** (Solute Carrier Family 2 Member 1) codifica el principal transportador de glucosa cerebral. Los defectos en este gen son causa de la deficiencia del transportador de glucosa cerebral GLUT1 que se manifiesta con una combinación de síntomas neurológicos que incluyen epilepsia (especialmente crisis generalizadas), trastorno cognitivo y alteraciones del tono y movimiento. Es fundamental su diagnóstico precoz para el inicio de un tratamiento específico mediante dieta cetogénica. Nuestros dos pacientes con variantes patogénicas en heterocigosis (casos 50-51) presentaban el fenotipo clásico de EE (espasmos, crisis generalizadas y focales), DI grave y un trastorno del movimiento complejo. La instauración de dieta cetogénica se tradujo en uno estos pacientes se tradujo un control completo de la epilepsia y una mejora de los movimientos coreo-atetósicos¹¹⁴.
- El gen **ARX** (Aristaless-Related Homeobox Gene) localizado en el cromosoma X codifica un factor de transcripción que resulta imprescindible para la correcta migración y funcionamiento de las interneuronas GABAérgicas. Las alteraciones en este gen homeobox son causa de un amplio espectro de trastornos neurológicos que incluyen: MDC (lisencefalia con/sin anomalías genitales o hidranencefalia entre otros), DI, trastorno del movimiento y EEs (de inicio precoz o espasmos epilépticos). De forma habitual, afecta a varones, como ocurre en nuestros dos pacientes (casos 52-53) que presentaban un estancamiento del desarrollo psicomotor asociado al inicio de la epilepsia, en forma de espasmos (de inicio neonatal y a los 7 meses respectivamente) y otras crisis generalizadas (mioclónicas y tónicas)¹⁵⁷.
- El gen **GRIN1** (Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 1) codifica la subunidad NR1 del receptor NMDA activado por glutamato. Los cambios patogénicas en este gen causan una pérdida de función del receptor, lo que se traduce en cuadros clínicos muy heterogéneos: desde DI o TEA sin epilepsia, hasta EEs discinéticas de inicio precoz caracterizadas por retraso psicomotor grave, hipotonía, movimientos coreico-distónicos y crisis polimorfos¹⁵⁸. Este último fenotipo es el que presentan los dos pacientes

con variantes patogénicas en heterocigosis de nuestra serie (casos 54-55): epilepsia fármaco-resistente iniciada en el primer año de vida (uno de ellos compatible con epilepsia mioclónica precoz) en la que las crisis epilépticas persisten a lo largo de la infancia.

- El gen **STXBP1** (Syntaxin Binding Protein 1) regula la formación y liberación de vesículas sinápticas, contribuyendo al equilibrio sináptico GABA-glutamato. Los pacientes con defectos en este gen padecen en más del 90% de las ocasiones una encefalopatía caracterizada por retraso generalizado del desarrollo o DI (generalmente grave), epilepsia de inicio en el primer año (diferentes EEs como síndrome de Ohtahara, West, Lennox Gastaut, *Rett-like*, entre otros) así como anomalías en el tono y trastornos del movimiento (frecuentemente ataxia y distonía). Los dos pacientes de nuestra serie con variantes patogénicas en heterocigosis (casos 56-57) reunían una serie de características clínicas homogéneas: EE de inicio en periodo neonatal (uno de ellos en forma de síndrome de Ohtahara) asociada a retraso global del desarrollo y trastorno del movimiento coreico-distónico¹⁵⁹.
- EL gen **CNKSR2** (Connector Enhancer of Kinase Suppressor Of Ras 2) localizado en el cromosoma X codifica una de las proteínas sinápticas implicadas en la proliferación, migración y diferenciación neuronal. Alteraciones en este gen se habían relacionado clásicamente con DI ligada a X, pero recientemente también se han descrito cuadros más complejos en varones que presentan DI, trastornos graves del lenguaje, TDAH y EEs tipo POCS. En mujeres el fenotipo suele ser más leve en forma de EFI y/o trastornos de aprendizaje. Los dos niños de nuestra serie (casos 58-59) con variantes patogénicas en heterocigosis presentaban este último fenotipo: retraso global del desarrollo y aparición de crisis focales de inicio a los 2-3 años con evolución a POCS³².
- El gen **SYNGAP** (Synaptic RAS-GTPase-Activating Protein 1) codifica una de las proteínas postsinápticas relacionadas con la regulación de los receptores glutamatérgicos (NMDA y AMPA). Los defectos en este gen explican hasta el 1% de las EEs y el 0,7% de los pacientes con DI. En la serie descrita hasta la fecha con mayor número de pacientes

(n=47) con alteraciones en este gen se describe un fenotipo de retraso psicomotor con mayor afectación en el área del lenguaje con evolución a DI, epilepsia generalizada, ataxia y TEA hasta en un 50%. Los dos niños de nuestra serie (casos 60-61) con variantes patogénicas en heterocigosis comparten estas características clínicas: retraso psicomotor, ataxia y epilepsia generalizada de inicio en los primeros 4 años de vida (crisis de ausencia, mioclónicas y CGTC)¹⁶⁰.

- Aproximadamente un 10% de los pacientes con fenotipos compatibles con síndrome de Angelman no presentan alteraciones en el gen *UB3A*. Uno de los genes, cuyas alteraciones son causa de estos cuadros clínicos de Angelman-*like* es *KANSL1* (KAT8 Regulatory NSL Complex Subunit 1) que codifica una proteína que forma parte de las histonas acetiltransferasas, relacionadas a su vez con la regulación de la expresión génica. En nuestra serie, los dos gemelos monocigóticos que presentaban una delección que incluía este gen (casos 62-63), desarrollaron un cuadro clínico complejo consistente en DI grave con mayor afectación en el área del lenguaje, facies dismórfica y epilepsia polimorfa (crisis focales clónicas y CGTC) con evolución posterior a POCS (primera asociación descrita de esta EE con alteraciones en *KANSL1*)¹⁶¹.
- El gen *MECP2* (Methyl-CpG-Binding Protein 2) localizado en el cromosoma X codifica una proteína implicada en la metilación del ADN, que a su vez, interviene en la regulación de la expresión génica como represor transcripcional en diversas células, entre ellas, las neuronas. Las alteraciones en este gen explican aproximadamente el 80-95% de los fenotipos clásicos de síndrome de Rett y el 50-70% de los casos Rett-*like* (atípicos). Este síndrome se caracteriza por una regresión en el uso propositivo de las manos y del lenguaje así como aparición de un trastorno de la marcha (atáxica) y estereotipias manuales. La epilepsia está presente entre el 60-84% de las ocasiones como ocurre en las dos pacientes de nuestra serie (casos 64-65) con variantes patogénicas en heterocigosis y desarrollo de un síndrome de Rett clásico con aparición a los dos años de crisis focales de diferente semiología (el tipo de crisis más frecuente en este síndrome)¹⁶².

- El gen **UBE3A** (Ubiquitin Protein Ligase E3A) codifica la proteína ubiquitina-ligasa E3 que forma parte del sistema de degradación proteico, el cual es imprescindible para una adecuada plasticidad sináptica. La expresión deficiente del alelo materno es causa del síndrome de Angelman, caracterizado por afasia, retraso motor, ataxia, DI, alteraciones conductuales (inatención, inquietud motriz, excitabilidad), trastorno de sueño y epilepsia (EEG característico de actividad delta con elementos trifásicos en regiones frontales). A pesar que en la mayoría de las ocasiones el defecto genético causante es la delección de 15q11.2-q13 (60-75% de los casos) en el alelo de origen materno, la paciente de nuestra serie (caso 66) mostraba una mutación puntual del gen **UB3A** (10% de los casos) presentando desde los 12 meses una epilepsia generalizada (crisis mioclónicas y ausencias) fármaco-resistente¹⁶³.
- Las alteraciones del gen **ALG13** (Asparagine-Linked Glycosylation 13) localizado en el cromosoma X, provocan uno de los más de 100 tipos de defectos congénitos de glicosilación (CDG Is). Los CDG son trastornos heterogéneos causados por una inadecuada glicosilación de proteínas y lípidos, que conlleva alteraciones a diferentes niveles estructurales (proteínas de membrana) y funcionales (sistemas enzimáticos y migración celular entre otros). Sólo se han descrito 10 casos de pacientes con variantes patogénicas en heterocigosis del gen **ALG13**, que se caracterizan por valores normales en las isoformas de transferrinas y un cuadro clínico de EE (síndrome de West), retraso global del desarrollo e hipotonía grave así como rasgos dismórficos y coagulopatía. Ese fue el fenotipo de la paciente de nuestra serie (caso 67) caracterizado por una EE tipo síndrome de West de inicio a los 3 meses de edad y desarrollo posterior de DI¹⁶⁴.
- El gen **SCN1B** (Sodium Channel Voltage-Gated Type I Beta Subunit) codifica una de las subunidades del receptor de sodio. Además de diferentes trastornos arritmogénicos (síndrome de Brugada y fibrilación auricular familiar) los defectos en este gen ocasionan distintos tipos de epilepsia: cuando los defectos son en ambos alelos se produce una EE de inicio precoz, mientras que si la alteración ocurre en un solo alelo puede ser causa de GEFS+. Esta última situación es la que sucede en el paciente de nuestra serie (caso 68)

con una variante patogénica en heterocigosis y una clínica de epilepsia generalizada (crisis de ausencia y CGTC generalmente desencadenada por fiebre) de inicio a los 20 meses y TDAH.

- El gen *DCX* (Doublecortin) localizado en el cromosoma X codifica una proteína que estabiliza los microtúbulos celulares, necesarios para una adecuada migración neuronal. Los defectos en este gen son una de las principales causas de dos tipos de MDC: lisencefalia (14 genes causales descritos hasta 2016) y de heterotopia en banda. La paciente de nuestra serie (caso 69) presentaba una variante patogénica en heterocigosis que causaba trastorno agiria-paquigiria lo que le producía la clínica característica de este tipo de MDC: DI y epilepsia fármaco-resistente polimorfa (crisis generalizadas y focales) de inicio a los 19 meses¹⁴.
- El gen *DNM1* (Dynamin 1) codifica una GTPasa encargada de la endocitosis sináptica. Las alteraciones en este gen son causa de una encefalopatía con características bastante homogéneas: retraso global del desarrollo grave (100%), hipotonía (90%), epilepsia (90%) generalmente en forma de espasmos y frecuente trastorno del movimiento coreico-distónico (>50%). Aunque la epilepsia suele ser fármaco-resistente y prolongarse hasta la edad adulta, la paciente de nuestra serie (caso 70) que presentaba una variante patogénica en heterocigosis, desarrolló una EE discinética con crisis focales y espasmos, bien controlada en biterapia a partir de los 3 años¹⁶⁵.
- Deleciones en el brazo corto del cromosoma 5 son causa del **Síndrome de maullido de gato** caracterizado por retraso psicomotor grave, fenotipo dismórfico, microcefalia y sintomatología de hiperactividad. Aunque la epilepsia (2-15%) y las anomalías cardíacas no son síntomas muy frecuentes en este síndrome, uno de los síntomas más discapacitantes de la paciente de nuestra serie (caso 71), que presentaba aparte una translocación parcial del cromosoma 8, fue una epilepsia con crisis focales motoras (con o sin evolución a TC) de inicio a los 9 meses además de una cardiopatía compleja¹⁶⁶.
- Las alteraciones en heterocigosis del gen *OFD1* (Oro Facial-Digital Syndrome Type 1) localizado en el cromosoma X, provocan el síndrome oro-facio-digital tipo 1

caracterizado por un cuadro dismórfico con diferente afectación a nivel oro-facial y en dedos de miembros superiores e inferiores, asociando en más de la mitad de los casos alteraciones renales (poliquistosis) o neurológicas (DI y/o anomalías del sistema nervioso central). Aunque suele afectar a mujeres (generalmente letal en hombres) y no suele asociar epilepsia, el paciente de nuestra serie (caso 72) es un varón con una delección que incluye la región de *splicing* (heredada de madre asintomática) que desarrolló una epilepsia generalizada fármaco-resistente desde los dos años de edad¹⁶⁷.

- El gen **RELN** (*reelin*) codifica una de las glicoproteínas de la matriz extracelular, implicada en la migración, plasticidad y conexión neuronal. Mientras que las alteraciones en homocigosis producen MDC graves tipo lisencefalia, las alteraciones en heterocigosis son responsables del 15-20% de los casos de epilepsia autosómica dominante con afectación auditiva. La diferente expresividad se objetiva en los estudios de segregación: desde familiares asintomáticos, hasta miembros con diferentes epilepsias focales o generalizadas. Este es el caso del paciente de nuestra muestra (caso 73) que presentaba un síndrome de Doose (epilepsia generalizada de inicio en edad infantil caracterizada por crisis mioclónica-atónicas), mientras que el padre (también portador) permanecía asintomático⁶³.
- El gen **CACNA1A** (Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 A) codifica una de las subunidades del canal de calcio neuronal (CaV2.1) imprescindible en la comunicación interneuronal. Las mutaciones LOF de este gen, aparte de su conocida asociación con tres trastornos neurológicos de transmisión autosómico dominante como son la migraña hemipléjica familiar, la ataxia episódica tipo 2 y la ataxia espino-cerebelosa 6; en los últimos años también se ha relacionado con diferentes tipos de epilepsia generalizada que incluyen ausencias y EE asociada a DI y sintomatología de afectación cerebelosa. En el paciente de nuestra serie (caso 74), que presentó un cuadro regresivo (DI grave) a los 3 años coincidiendo con el inicio de CGTC (generalmente desencadenadas por fiebre); se identificó una variante en heterocigosis

compartida por otros miembros de la familia los cuales referían una migraña no claramente hemipléjica¹⁶⁸.

- El gen *TBL1XR1* (Transducin Beta Like 1 X-linked Receptor 1) codifica una proteína que forma parte de los complejos que regulan la transcripción celular. Las alteraciones en este gen se relacionan con diferentes trastornos del neurodesarrollo que incluyen: DI (en ocasiones síndromica), TEA o epilepsia (de diferente gravedad, incluido síndrome de West). El paciente de nuestra serie (caso 75) afecto por una delección que incluía este gen presentaba DI no síndromica leve y un trastorno de conducta además de CGTC desencadenadas por fiebre desde los dos años de edad¹⁶⁹.
- El gen *POLG* (Polymerase Gamma) codifica una subunidad de la polimerasa gamma, la cual es clave en la replicación y reparación del ADN mitocondrial. Las alteraciones en este gen provocan una disfunción mitocondrial que provoca síntomas de ataxia, neuropatía y del espectro de mio-cerebro-hepatopatía que incluye epilepsia fármaco-resistente, retraso psicomotor y frecuente afectación muscular y hepática (síndrome de Alpers). La epilepsia es fundamentalmente occipital (a nivel de semiología, actividad EEG y alteraciones en resonancia craneal), como ocurre en el paciente de nuestra muestra (caso 76): a los 3 años comenzó con crisis focales autonómicas con alteración de la conciencia y frecuente evolución a crisis tónico-clónicas. No fue hasta los 13 años cuando se descubrieron dos variantes patogénicas en heterocigosis (heterocigoto compuesto) de este gen, habiendo sido diagnosticado hasta ese momento de una epilepsia benigna de la infancia tipo Panayiotopoulos atípica¹⁷⁰.
- Los pacientes con duplicación de la región **15q11-q13** se caracterizan por presentar: retraso global del desarrollo/DI moderada-grave (especial afectación en el área del lenguaje), fenotipo dismórfico, hipotonía y TEA. Suelen desarrollar epilepsia hasta en el 63% de las ocasiones (casi la mitad en forma de espasmos) con frecuentes casos de muerte súbita inexplicada en paciente epiléptico (SUDEP) y fármaco-resistencia. En cambio el niño de nuestra serie (caso 77) con TEA y DI leve nunca sufrió crisis epilépticas. En este paciente se objetivó una actividad epiléptica focal centro-temporal que se

hacía continua en sueño. Tras el inicio de tratamiento antiepiléptico (ácido valproico) se produjo una mejoría de la sintomatología autística y conductual. Otra paciente de nuestra serie (caso 89) presentaba una duplicación de **15q11.2**, aunque de herencia paterna por lo que se consideró una VUS¹⁷¹.

- El gen **GRIN2B** (Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 2B) codifica la subunidad NR2B del receptor NMDA activado por glutamato. Se ha estimado que el 0,2% de los pacientes con trastornos del neurodesarrollo y/o epilepsia presentan alteraciones en este gen, incluyendo una variedad heterogénea de síntomas que comprenden: DI (89,6%), TEA (28%), epilepsia polimorfa (52%) (desde espasmos hasta crisis focales de inicio en edad escolar), trastornos del movimiento (10%), no siendo infrecuente que asocien MDC (14%). En el caso de la paciente de nuestra serie (caso 78) una variante en heterocigosis produjo un cuadro clínico de artrogriposis parcial, hipotonía, retraso global del desarrollo moderado y anomalías epileptiformes multifocales a partir de los 3 años (no se han referido hasta el momento crisis epilépticas)¹⁷².
- **Otras variantes patogénicas**

El paciente de nuestra serie que es portador de una **duplicación en 9q21.33-q22.1** (caso 79) presentaba una epilepsia generalizada tipo ausencia de inicio a los 3 meses. Debido al tamaño de la duplicación y la cantidad de genes incluidos (10) en el listado OMIM, ésta se consideró como probablemente causal.

También el paciente que presenta una “**translocación del cromosoma 15**” (caso 80) (así constaba en los informes del paciente, aunque no se ha podido tener acceso al informe genético) aparentemente causal de su grave trastorno del neurodesarrollo no progresivo caracterizado por DI profunda, TEA, tetraparesia espástica y epilepsia generalizada no fármaco-resistente.

7.2.2. Variantes de significado incierto (VUS)

- El gen *IQSEC2* (IQ Motif And SEC7 Domain-Containing Protein 2) localizado en el cromosoma X, codifica una proteína que forma parte de receptores glutamatérgicos, que a través de la regulación de la vía ARF coordinan el recambio vesicular sináptico y las estructuras del citoesqueleto. Defectos en este gen son causa de DI moderada-grave y de epilepsia heterogénea de forma que, los casos esporádicos suelen presentarse en forma EE de inicio no precoz (6-48 meses), mientras que los casos familiares suelen presentar epilepsias generalizadas menos fármaco-resistentes. En la niña de nuestra serie (caso 81), que presentaba una EE polimorfa con crisis focales (motoras con o sin conciencia preservada) y generalizadas (CGTC), ataxia y estancamiento en el desarrollo psicomotor se identificó una variante patogénica en heterocigosis heredada de la madre asintomática¹⁷³.
- El uso de técnicas de secuenciación masiva identifica en ocasiones variantes en genes que no se relacionan con el fenotipo del paciente (variantes en genes de significado incierto). Este es el caso de la paciente de nuestra serie (caso 82) con una variante en heterocigosis del gen *SCN4A* (Sodium Voltage-Gated Channel Alpha Subunit 4). Defectos en este gen son causa de diferentes trastornos de movimiento (miotonía, paramiotonía, parálisis periódica) y de un aumento de susceptibilidad a epilepsia generalizada, pero no se han descrito en relación con el fenotipo de esta niña que presentó a los 6 meses una EE tipo espasmos epilépticos con buena respuesta a piridoxina⁴⁴.
- Esta misma situación ocurre en la paciente con variante en heterocigosis del gen *KCNMA1* (Potassium Calcium-Activated Channel Subfamily M Alpha 1) que codifica una de las proteínas que forma parte de canales de potasio implicados en la modulación del tono muscular liso, excitabilidad neuronal y liberación de neurotransmisores. Los defectos en heterocigosis de este gen se han descrito puntualmente en pacientes que presentaban discinesia paroxística no cinesiogénica y que presentan frecuentemente epilepsia; en cambio, el cuadro clínico de nuestra paciente (caso 83) era compatible

con una EE inclasificable y DI leve sin ningún trastorno del movimiento asociado¹⁷⁴.

- Igualmente sucede en la paciente con heterocigosis compuesta del gen *ASPM* (Abnormal Spindle-like Microcephaly), principal responsable de la microcefalia primaria hereditaria. En cambio esta niña (caso 84) presentaba un cuadro clínico de retraso global del desarrollo moderado y aparición posterior de espasmos epilépticos a los seis meses de vida con buena respuesta a VGB¹⁷⁵.
- También la variante en heterocigosis del gen *CHRNA4* (Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 4 Subunit) que codifica una proteína de los receptores nicotínicos neuronales implicados en la transmisión sináptica se considera VUS, debido a que defectos en este gen se han relacionado con la epilepsia hipermotora durante el sueño. Este fenotipo no coincide con el cuadro clínico del paciente de nuestra serie (caso 85) que presentaba una EE de inicio a los dos meses de vida con diferentes tipos de crisis (espasmos, mioclónicas y clónicas)⁵⁰.
- El gen *CNTN6* (del inglés Contactin 6) codifica una de las proteínas involucradas en el desarrollo de oligodendrocitos. Variantes en el número de copias parecen relacionarse con un amplio espectro de trastornos neurológicos (TEA, DI, TDAH y epilepsia) y psiquiátricos (trastorno bipolar, del estado de ánimo y recientemente con síndrome de Gilles de la Tourette). El paciente de nuestra serie con una duplicación que incluye a este gen (caso 86) presentaba una EF (con esclerosis mesial asociada) aparte de DI leve y un trastorno del control de impulsos. No se pudo realizar estudio de segregación en familiares (adopción internacional)¹⁷⁶.
- También se consideró como VUS la CNV del paciente (caso 87) que presentaba una epilepsia generalizada fármaco-resistente de inicio a los 7 años junto con un trastorno cognitivo y TDAH. Esta delección en 3q24 no incluye ningún gen descrito en OMIM aunque es adyacente a los genes *ZIC1* y *ZIC4* (*ZIC Family Member 1-4*), los cuales están relacionados con anomalías congénitas del tubo neural como la malformación Dandy-Walker¹⁷⁷.

- En el caso del paciente con una EE tipo POCS (caso 88) se identificó una duplicación de la citobanda **11q24.3** relacionada relacionada con el síndrome de Bartter cuando el defecto se encuentra en homocigosis.

7.3. RELACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS CON LA PRESENCIA DE ALTERACIONES GENÉTICAS

Se analizó la relación entre las principales variables clínicas y la presencia de alteraciones genéticas (las consideradas patogénicas o probablemente patogénicas). Considerando una significación estadística si $p < 0,05$, se encontraron las siguientes asociaciones (**Tabla V y VI**):

- En el grupo de pacientes con alteración genética fue más probable presentar una exploración neurológica alterada ($p < 0,001$) y asociar otras enfermedades médicas no neurológicas ($p 0,012$).
- Asimismo, entre aquellos pacientes en los que no se identificó una alteración genética, el inicio de la epilepsia (o de actividad epiléptica) fue más tardío que en aquellos con “mutación” identificada (24 meses *versus* 6 meses respectivamente).

No se encontró ninguna asociación con el resto de variables clínicas: edad del paciente, antecedentes familiares de epilepsia, asociación de trastornos psiquiátricos o de aprendizaje, tipo de epilepsia, tipos de crisis epilépticas, asociación de regresión o estancamiento en el neurodesarrollo desde el inicio de epilepsia, control de la epilepsia, FAEs empleados o tiempo desde el debut de la epilepsia hasta finalizar las técnicas genéticas.

Tabla V. Variables clínicas cuantitativas según la presencia de alteración genética.

	No mutación (n=138)	Mutación (n=80)	<i>p</i>
Edad (años)	Mediana: 10 (RI: 6-8), Rango: 0,4-47	Mediana: 7 (RI: 4,5-17) Rango: 1-55	0,172
Inicio crisis (meses)	Mediana: 24 (RI: 7,5-72) ,Rango: 0-264	Mediana: 6 (RI: 3-21) Rango: 0-72	0,000*
Tipos de crisis	Media: 1,53 (\pm 0,72) Rango: 0-4	Media: 1,65 (\pm 0,83) Rango: 0-4	0,308
FAEs al inicio del estudio	Mediana: 2 (RI: 1-3) Rango: 0-5	Mediana: 2 (RI: 1-3) Rango: 0-4	0,818
FAEs empleados	Mediana: 3 (RI: 2-8) Rango: 0-20	Mediana: 4 (RI: 2-8) Rango: 0-20	0,732
Duración estudio (meses)	Mediana: 60 (RI: 28-149) Rango: 3-672	Mediana: 60 (RI: 21-135) Rango: 2-558	0,46

*diferencias estadísticamente significativas

Datos expresado como Media +/- DE o como Mediana (rango intercuartílico)

Tabla VI. Variables clínicas cualitativas según presencia de alteraciones genéticas.

	No mutación (n=138)	Mutación (n=80)	<i>p</i>
Antecedent. familiares	<ul style="list-style-type: none"> No: 102 (80,4%) Sí: 25 (19,6%) 	<ul style="list-style-type: none"> No: 53 (76%) Sí: 20 (24%) 	0,316
Exploración neurológica	<ul style="list-style-type: none"> Normal: 35 (68,9%) Alterada: 42 (31,1%) 	<ul style="list-style-type: none"> Normal: 93 (68,9%) Alterada: 44 (55,7%) 	0,001*
Trastornos médicos	<ul style="list-style-type: none"> No: 133 (97,1%) Sí: 4 (2,9%) 	<ul style="list-style-type: none"> No: 68 (86,1%) Sí: 11 (13,9%) 	0,012*
Trastornos psiquiátricos	<ul style="list-style-type: none"> No: 112 (81,16%) Sí: 26 (18,84%) 	<ul style="list-style-type: none"> No: 71 (88,8%) Sí: 9 (11,2%) 	0,16
Trastornos aprendizaje	<ul style="list-style-type: none"> No: 29 (21,2%) Leve: 32 (23,4%) Mod-grave: 76 (55,5%) 	<ul style="list-style-type: none"> No: 9 (11,5%) Leve: 15 (19,2%) Mod-grave: 54 (69,2%) 	0,103
Tipo de epilepsia	<ul style="list-style-type: none"> Focal id/f: 18 (13,0%) Focal sintomática: 9 (6,5%) Generalizada: 40 (29,0%) EE: 67 (48,6%) Febriles: 2 (1,4%) A. epiléptica: 2 (1,4%) 	<ul style="list-style-type: none"> Focal id/f: 15 (18,8%) Focal sintomática: 3 (3,8%) Generalizada: 15 (18,8%) EE: 45 (56,2%) Febriles: 0 (0%) A. epiléptica: 2 (2,5%) 	0,320
Control de crisis	<ul style="list-style-type: none"> No: 64 (47,1%) Sí: 72 (52,9%) 	<ul style="list-style-type: none"> No: 33 (42,3%) Sí: 57,7% 	0,597

Mod-grave: moderada-grave; **Focal id/f:** epilepsia focal idiopática/familiar; **EE:** encefalopatía epiléptica. **A.**

Epiléptica: actividad epiléptica sin crisis.

*diferencias estadísticamente significativas

7.4. UTILIDAD DEL ESTUDIO GENÉTICO PERCIBIDA POR MÉDICOS

7.4.1. Resultados generales de la encuesta acerca de la utilidad médica

A continuación se analizaron los resultados globales de las 218 encuestas respondidas acerca del impacto en diferentes aspectos clínicos del estudio genético de las epilepsias (**figura 10**). La mayoría de los médicos que contestaron eran pediatras subespecializados en neurología infantil (70,64%), mientras que el resto eran neurólogos (29,36%).

7.4.1.1. Utilidad en el conocimiento de la epilepsia

Un alto porcentaje de los médicos consideraron que el análisis genético no sólo les ayudó a conocer mejor la enfermedad (49,04%) sino que también fue útil para que los pacientes y/o familiares mejorasen el conocimiento acerca de su epilepsia (53,21%).

7.4.1.2. Utilidad en el la orientación médica

Si bien casi la mitad de los médicos consultados consideraron que la prueba genética había sido útil para confirmar un diagnóstico o una sospecha clínica previa (40,19%), hasta en 54 ocasiones los investigadores realizaron una **modificación del diagnóstico previo** (24,88%) del paciente. Los diagnósticos que se cambiaron abarcaban una gran diversidad de trastornos neurológicos que incluían: epilepsias no lesionales en el 46,29% (EG idiopática, EFI, POCS, EEs clasificables, epilepsias mioclónicas progresivas, síndrome de Dravet o crisis parainfecciosas), epilepsias focales "criptogénicas" en el 20,37%, epilepsias de causa estructural en el 11,11% (en las que se presumía que eran secundarias a alteraciones en hipocampo, esclerosis mesial o por encefalopatía hipóxico-isquémica perinatal), epilepsias de origen metabólico en el 12,96% (trastornos de la cadena respiratoria mitocondrial, acidurias orgánicas, GLUT1 o enfermedad de Menkes) u otros trastornos del neurodesarrollo en el 7,41% (síndrome de Rett-like, síndrome de Angelman o retraso global del desarrollo). Esta modificación diagnóstica supuso un cambio en el pronóstico de la epilepsia en 19 pacientes (8,71%), en la mayoría de los cuales implicó una mejora del mismo (12/19) (**Tabla VII**).

Tabla VII: Cambio de pronóstico tras resultado del estudio genético.

Caso	Diagnóstico previo	Gen	Diagnóstico tras estudio genético
PRONÓSTICO MÁS FAVORABLE			
18	Epilepsia focal criptogénica	<i>PRRT2</i>	E. lactante benigna familiar
23	Epilepsia focal criptogénica	<i>PRRT2</i>	E. lactante benigna familiar
25	Epilepsia focal criptogénica	<i>PRRT2</i>	E. lactante benigna familiar
11	Epilepsia focal criptogénica	<i>SCN1A</i>	E. crisis febriles plus (GEFS+)
47	E. mioclónica progresiva	<i>KCNA2</i>	Encefalopatía epiléptica
49	E. mioclónica progresiva	<i>KCNA2</i>	Encefalopatía epiléptica
44	Enfermedad mitocondrial	<i>CDKL5</i>	Encefalopatía epiléptica
34	Enfermedad mitocondrial	<i>KCNQ2</i>	Encefalopatía epiléptica
74	Enfermedad mitocondrial	<i>CACNA1A</i>	Encefalopatía epiléptica
32	Aciduria metilmalónica	<i>KCNQ2</i>	Encefalopatía epiléptica
48	Síndrome de Dravet	<i>KCNA2</i>	Encefalopatía epiléptica
68	Encefalopatía epiléptica	<i>SCN1B</i>	E. crisis febriles plus (GEFS+)
PRONÓSTICO MÁS DESFAVORABLE			
58	Encefalopatía epiléptica:POCS	<i>CNKSR2</i>	Encefalopatía por CNKSR2
65	Retraso global del desarrollo	<i>MECP2</i>	Síndrome de Rett
42	Crisis parainfecciosas	<i>PCDH19</i>	Encefalopatía epiléptica
4	Epilepsia focal criptogénica	<i>SCN1A</i>	Síndrome de Dravet
78	Ausencias de inicio precoz	Dup 9q21	Epilepsia generalizada genética
76	Síndrome de Panayiotopoulos	<i>POLG</i>	Encefalopatía epiléptica
57	Epilepsia focal criptogénica	<i>STXBP1</i>	Encefalopatía epiléptica

En el 41,28% de las ocasiones los médicos consideraron que el disponer de un análisis genético permitió **evitar** (o hubiera evitado) la realización de nuevas **pruebas complementarias** destinadas a identificar la etiología de la epilepsia. Los estudios que se evitaron comprendían en muchos casos procedimientos invasivos: estudios metabólicos ampliados (23,39%) en la mitad de los cuales se especificaba la necesidad de la realización de una punción lumbar para la obtención de líquido céfalo-raquídeo (LCR), pruebas de neuroimagen (12,38%), biopsia muscular (5,96%), biopsia piel (4,13%), otras pruebas genéticas (2,75%) y tomografía por emisión de positrones (PET) (2,29%).

Además, el resultado genético permitió proporcionar un **consejo genético** en el 38,71% de las ocasiones.

En el 15,59% de los casos, el estudio genético se tradujo en una **modificación del tratamiento** médico, en forma de añadir, retirar o evitar tratamientos antiepilépticos. Estos cambios produjeron una mejoría documentada en diferentes aspectos clínicos en el 4,59% de los pacientes (**Tabla VIII**) Los cambios en el tratamiento se realizaron fundamentalmente cuando los pacientes presentaban alteraciones genéticas en los genes *SCN1A* (10/15), *KCNQ2* (4/5) y *KCNA2* (3/3).

Se pudo **identificar la causa genética en otros familiares afectados** en el 6,88% de los pacientes, incluyendo tanto genes en los cuales sus mutaciones asocian perfiles clínicos homogéneos como *PRRT2* (identificación de 7 familiares con BFIS y/o discinesia paroxística cinesiogénica) o *KCNQ2* (diagnóstico de una familia con BFNS), como genes con una expresividad variable como *GRIN2A* (se identificaron 4 familias cuyos miembros presentaban una combinación de epilepsia, trastornos de aprendizaje o de conducta), *SCN1A* (dos familias con GEFS+) y *CACNA1A* (una familia con una combinación variable de epilepsia y/o migraña)

Tabla VIII. Modificaciones de tratamiento tras resultado del estudio genético.

N	Gen	Modificaciones de tratamiento	Mejoría del paciente
1	<i>SCN1A</i>	Evitar lamotrigina	No
14	<i>SCN1A</i>	Añadir stiripentol	Pendiente de evolución
7	<i>SCN1A</i>	Evitar lamotrigina	No
4	<i>SCN1A</i>	Evitar bloqueantes canal de Na ⁺	No
8	<i>SCN1A</i>	Evitar bloqueantes canal de Na y VGB	Pendiente de evolución
3	<i>SCN1A</i>	Evitar bloqueantes de canal de Na	No
6	<i>SCN1A</i>	Añadir stiripentol	No
9	<i>SCN1A</i>	Retirar carbamazepina	No
10	<i>SCN1A</i>	Retirar bloq. canal Na, añadir PRP	Pendiente de evolución
13	<i>SCN1A</i>	Retirar fenitoína	No información disponible
31	<i>KCNQ2</i>	Añadir carbamazepina	Sí (epilepsia)
29	<i>KCNQ2</i>	Retirada de politerapia	No información disponible
27	<i>KCNQ2</i>	Añadir piridoxina	No
34	<i>KCNQ2</i>	Añadir carbamazepina y PHT, retirar	Sí (epilepsia y desarrollo
47	<i>KCNA2</i>	Añadir aminopiridina	Sí (desarrollo psicomotor,
48	<i>KCNA2</i>	Añadir acetazolamida	Sí (epilepsia)
49	<i>KCNA2</i>	Añadir aminopiridina	Sí (epilepsia, desarrollo
35	<i>GRIN2A</i>	Evitar oxcarbazepina	No
36	<i>GRIN2A</i>	Añadir memantina	Pendiente de aprobación
37	<i>GRIN2A</i>	Añadir memantina	Pendiente de aprobación
23	<i>PRRT2</i>	Añadir carbamazepina	Sí (epilepsia)
25	<i>PRRT2</i>	"Retirar fármacos" (no especificado)	No

23	<i>PRRT2</i>	Añadir levetiracetam	Sí (epilepsia)
50	<i>SLC2A1</i>	Iniciar dieta cetogénica y retirar PB	Sí (epilepsia y movimiento)
51	<i>SLC2A1</i>	Iniciar dieta cetogénica	Sí (epilepsia)
23	<i>PRRT2</i>	Añadir carbamazepina	Sí (epilepsia)
25	<i>PRRT2</i>	"Retirar fármacos" (no especificado)	No
23	<i>PRRT2</i>	Añadir levetiracetam	Sí (epilepsia)
64	<i>MECP2</i>	Evitar ácido valproico	No
65	<i>MECP2</i>	Añadir topiramato	Sí (crisis hiperventilación)
57	<i>STXBP1</i>	Evitar fármacos GABAérgicos	No
54	<i>GRIN1</i>	Añadir memantina	Pendiente de aprobación
75	<i>GRIN1</i>	"Evitar fármacos" (no especificado)	No
74	<i>CACNA1A</i>	Añadir lamotrigina	Pendiente de evolución
45	<i>CDKL5</i>	Retirar cofactores (B1 y B6)	No
No mutación		No inicio de dieta cetogénica	No
No mutación		"Retirar fármacos" (no especificado)	No información disponible

N: número de caso de paciente; Na: sodio; PRP: perampanel; VGB: vigabatrina; PHT: fenitoína; PB: fenobarbital.

7.4.1.3. Utilidad global del estudio genético

La mayoría de los médicos consideraban que identificar una causa genética como responsable de la epilepsia de sus pacientes implicaría un mejor manejo médico en el momento actual (42,39%) frente a aquellos que consideraban que esta mejoría se produciría en un futuro (39,63%) u otros que no consideraban que un diagnóstico genético produciría ninguna mejora médica (17,97%).

Ninguno de los investigadores observaron una reacción negativa en los padres al informarles de las pruebas genéticas realizadas. En la mayoría la reacción se consideró positiva (62,5%) frente a una minoría que la consideró indiferente (37,5%).

El promedio de las respuestas de los médicos cuando se les pidió que puntuaran del 1 al 10 (considerando el valor de 1 como "nada útil" y el valor de 10 como "algo imprescindible") fue de $6,43 \pm 3,75$.

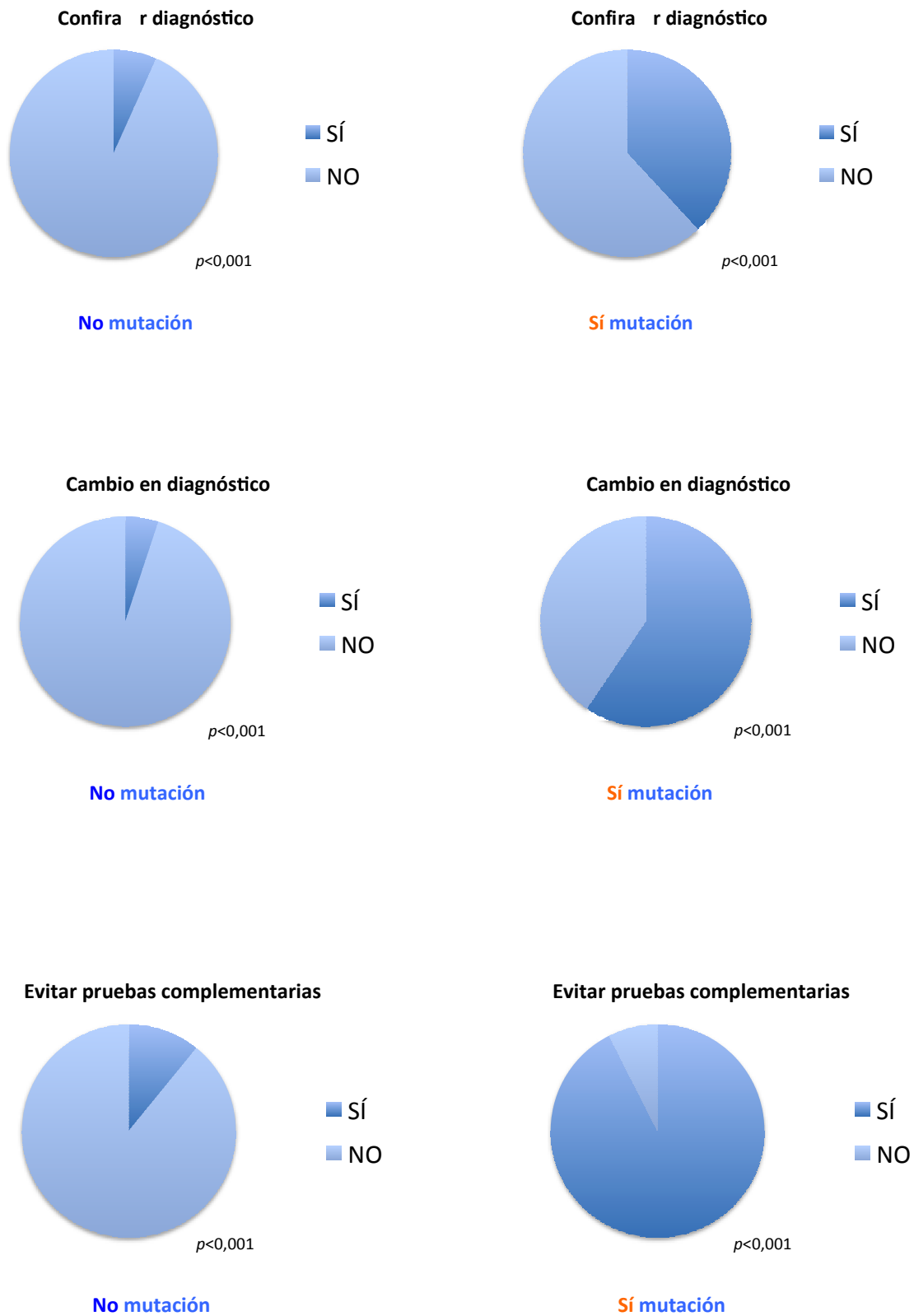
7.4.2. Relación de las variables de la encuesta médica con la presencia de alteraciones genéticas

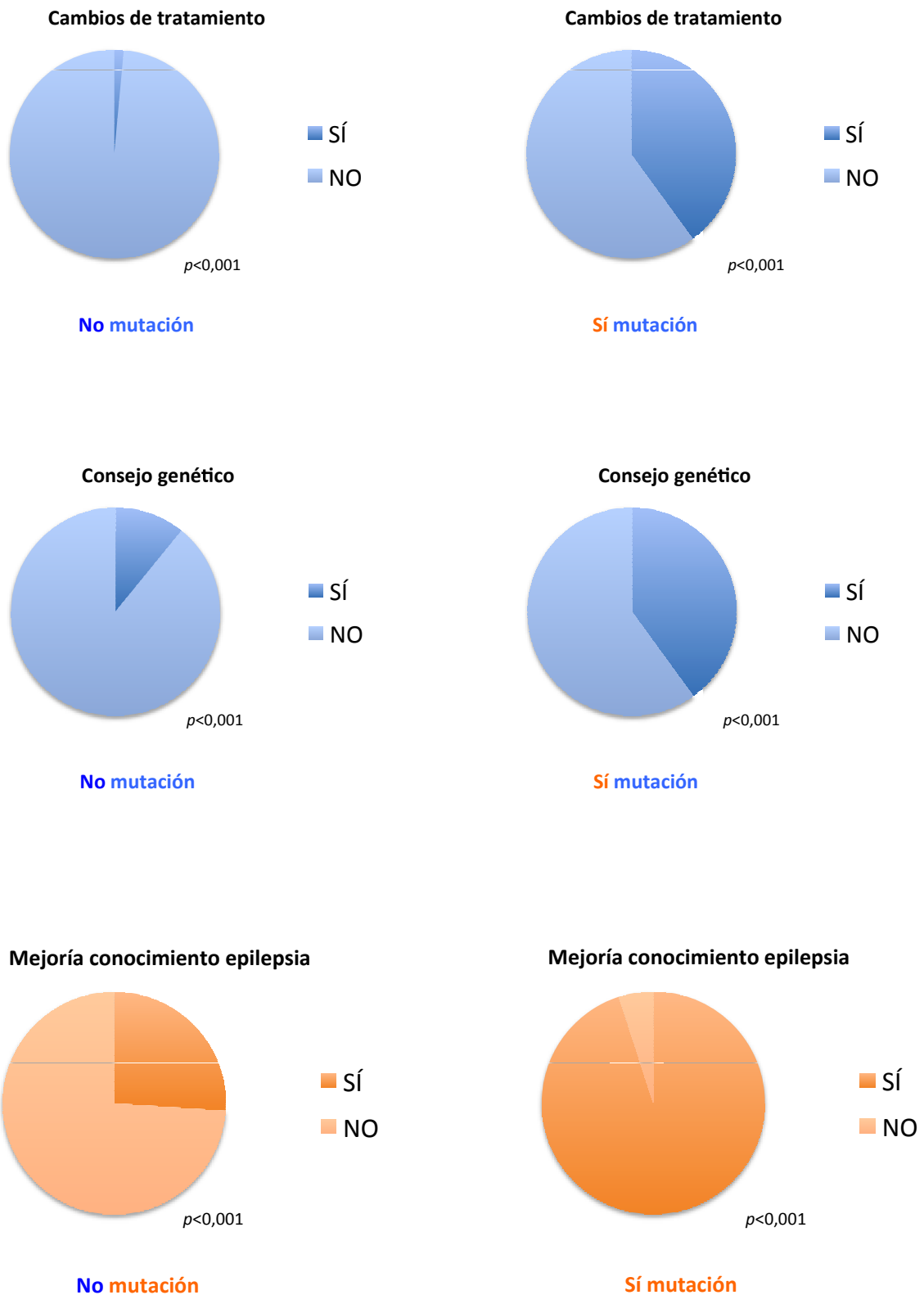
Se estudiaron las variables de la encuesta sobre el impacto en la orientación médica en función de la presencia de alteraciones genéticas (patogénicas o probablemente patogénicas). Se observó una asociación estadísticamente significativa en todas las variables preguntadas, de forma que el hecho de identificar un defecto genético se relacionó con (Tabla IX) (Figura 13):

- Mejoría en confirmar diagnóstico o sospecha clínica previa, así como mejoría del conocimiento de la epilepsia.
- Cambios en el manejo médico: modificaciones en el diagnóstico y en el tratamiento, posibilidad de ofrecer un consejo genético y evitar pruebas complementarias.
- Reacción de los padres ante la información del resultado genético considerada como "positiva".

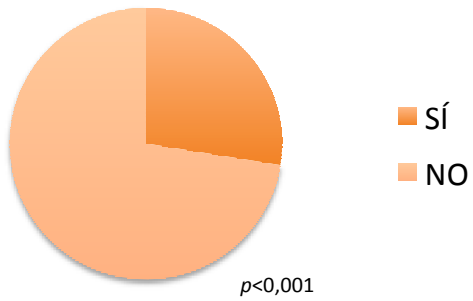
También la valoración global de utilidad fue superior cuando los pacientes presentaban algún tipo de defecto genético: media total $6,4 \pm 3,7$ *versus* media del grupo "con mutación" de $9,1 \pm 1,3$.

Figura 13. Utilidad clínica en función de presencia de alteraciones genéticas.



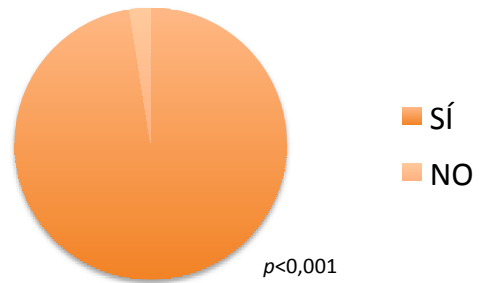


Comprensión por familiares



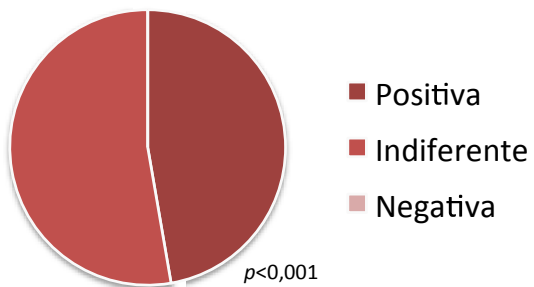
No mutación

Comprensión por familiares



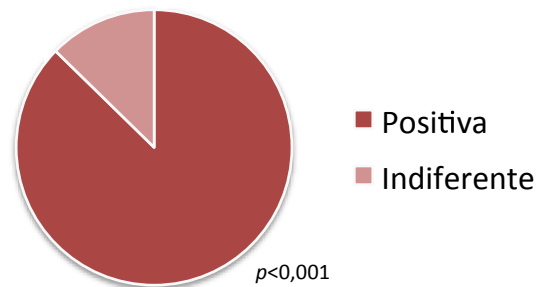
Sí mutación

Reacción familiares



No mutación

Reacción familiares



Sí mutación

Tabla IX Variables cualitativas de la encuesta médica según la presencia de alteraciones genéticas.

	No mutación	Mutación	P
Útil para confirmar diagnóstico			<0,001
No útil	125 (93,3%)	3 (3,8%)	
Útil	9 (6,7%)	77 (96,2%)	
Modificación diagnóstico previo			<0,001
No	131 (94,9%)	32 (40,5%)	
Sí	7 (5,1%)	47 (59,5%)	
Útil para conocer la epilepsia			<0,001
No	102 (73,9%)	4 (5,0%)	
Sí	36 (26,1%)	76 (95,0%)	
Evitar pruebas complementarias			<0,001
No	122 (88,4%)	6 (7,5%)	
Sí	16 (11,6%)	74 (92,5%)	
Modificación de tratamiento			<0,001
No	136 (98,6%)	48 (60,0%)	
Sí	2 (1,4%)	32 (40,0%)	
Útil para consejo genético			<0,001
No	123 (89,1%)	10 (12,7%)	
Sí	15 (10,9%)	69 (87,3%)	
Reacción en padres			<0,001
Negativa	0 (0%)	0 (0%)	
Positiva	61 (47,3%)	69 (87,3%)	

Útil para ofrecer información				<0,001
No	100 (72,5%)	2 (2,5%)		
Sí	38 (27,5%)	78 (97,5%)		

Destaca el hecho de que, aunque no se detectaran alteraciones genéticas en el estudio, también se produjeran modificaciones en el manejo clínico. De esta forma, en 16 pacientes (11,6%) con resultados negativos se evitó la realización de nuevos estudios, 9 de los cuales incluía la realización de una punción lumbar para estudio de LCR. Ya hemos descrito previamente (**Tabla VIII**) que en dos paciente se modificó el tratamiento (1,4%), al igual que en otros 7 pacientes (5,1%) en los que se cambió el juicio clínico; previamente diagnosticados de síndrome de Dravet (3 pacientes), con GLUT1 (2 pacientes), síndrome de Rett (1 paciente) o BFIS (1 paciente) (**Tabla VII**).

7.4.3. Relación de las variables de la encuesta médica con las características clínicas en los pacientes con alteración genética

En los 80 pacientes con alguna alteración genética (patogénica o probablemente patogénica), se buscó una asociación entre las variables del impacto médico (recogidas mediante encuestas) y las principales características clínicas-epidemiológicas (edad, exploración, comorbilidad con trastornos médicos, psiquiátricos o de aprendizaje, presencia de antecedentes familiares de epilepsia/trastorno de movimiento, edad de inicio y tipo de epilepsia, control de la misma, regresión, tratamientos empleados y especialidad del médico).

La edad del paciente en el momento del inicio de estudio, el tiempo hasta recibir el resultado genético y en menor medida la especialidad médica (Neuropediatría/Neurología) fueron las características que más se asociaron con las variables de utilidad. De forma que los pacientes de menor edad en el momento de inicio

del estudio genético y en los que menos demora hubo hasta el resultado genético fue donde el estudio genético se consideró más útil. En los pacientes pediátricos fue más probable que se evitaran pruebas complementarias y que se proporcionara consejo genético, mientras que en los pacientes adultos fue más frecuente que se modificara el tratamiento. En este sentido, fueron los especialistas en Neuropediatría los que mejor valoraron la utilidad de las pruebas genéticas y más pudieron proporcionar un consejo genético, mientras que los neurólogos fueron los que más modificaron y/o confirmaron diagnósticos y tratamientos previos.

Asimismo una menor demora en el diagnóstico genético desde el debut de la epilepsia se asoció a una mayor probabilidad de modificar diagnósticos previos, ofrecer un consejo genético a los familiares y una percepción de mayor utilidad del mismo.

En aquellos pacientes con EE fue más frecuente que se modificara el diagnóstico y que se proporcionara consejo genético; en cambio, se asociaron con un menor ahorro de pruebas complementarias. En la **tabla X** se describe el grado de significación estadística de las principales variables analizadas.

Al analizar la reacción de los padres ante el resultado genético con el resto de variables clínico-epidemiológicas de la muestra se encontró una relación estadísticamente significativa entre una reacción positiva y una menor edad del paciente (**Tabla XI**).

Tabla X. Grado de significación estadística de la relación entre: variables de la encuesta médica y características clínico-epidemiológicas en pacientes con "mutación" genética.

<i>p</i>	Conocer	Grado utilidad	Confirma r dco	Modificar dco	Evitar pruebas	Modificar tto	Consejo genético
Especialidad médica	1,000	0,002**	1,000	0,006**	0,37	0,027*	0,007**
Edad	0,217	0,001***	0,010**	0,009**	0,021*	0,477	0,008**
Comorbilidad psiquiátrica	1,000	0,169	1,000	0,019	1,000	0,146	1,000
Comorbilidad médica	0,625	0,462	1,000	0,146	0,219	0,015*	0,498
Trastorno de aprendizaje	1,000	0,919	0,674	0,214	0,409	0,589	0,672
Inicio	0,401	0,389	0,857	0,593	0,224	0,057	0,515
Tipo de epilepsia	0,859	NID	1,000	0,034*	0,445	0,352	0,306
Encefalopatía epiléptica	0,438	0,395	0,711	0,050*	0,025*	0,167	0,017*
Regresión	1,000	0,078	0,602	0,234	0,104	0,249	0,818
>2 FAEs	0,619	0,592	0,550	0,128	0,804	0,098	0,472
Antecedentes familiares	1,000	0,100	0,563	0,088	0,567	1,000	0,434
T (menos demora)	0,763	0,002**	0,121	0,017*	0,008**	0,944	0,031*
Control de Epilepsia	0,634	0,849	0,258	0,133	0,694	0,942	1,000

Dco: diagnóstico; **Tto:** tratamiento; **EE:** encefalopatía epiléptica; **FAEs:** fármacos antiepilépticos; **T:** tiempo; **NID:** información no disponible.

Tabla XI. Reacción de los padres según la edad en pacientes con alteración genética

	Reacción de padres indiferente (n=10)	Reacción de padres positiva (n=69)	<i>p</i>
Edad	n: 10	n: 67	0,004*
(años)	Mediana: 16,5 (RI: 11,5-22) Media: 18,3 ($\pm 10,84$)	Mediana: 6,5 (RI: 4-14,5) Media: 10,42 ($\pm 10,19$)	

*diferencias estadísticamente significativas

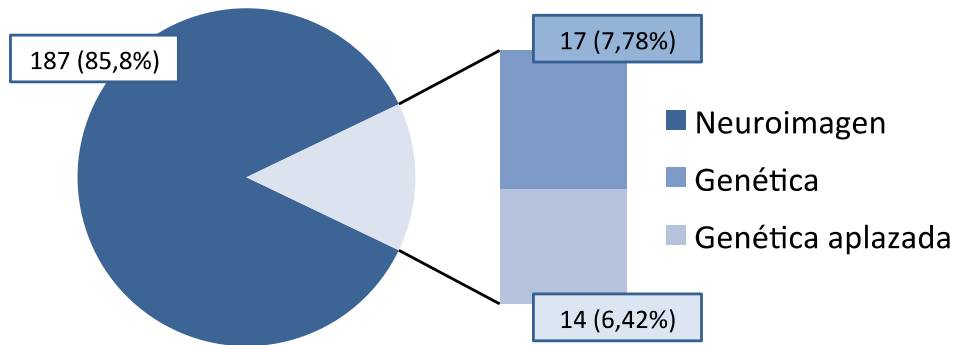
Datos expresado como Media +/- DE o como Mediana (rango intercuartílico)

7.4.4. Análisis de la preferencia en la elección de pruebas complementarias

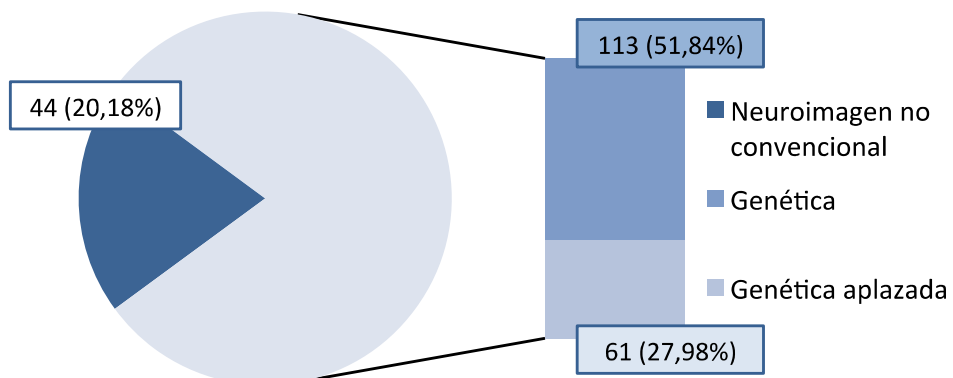
Al preguntar a los médicos acerca de qué prueba complementaria hubieran realizado en primer lugar en cada paciente, la mayoría (85,78%) hubiera solicitado una prueba de neuroimagen convencional (RM 1,5T) antes que un estudio genético. En cambio, se prefirió un análisis genético antes que la realización de neuroimagen "no convencional" (que incluía RM 3T, PET, entre otras) (79,81%) para el estudio de errores congénitos del metabolismo (86,24%) o antes que biopsia muscular/piel para identificación de enfermedades mitocondriales, metabólicas o de depósito (96,33%).

El orden de preferencia de los médicos acerca del momento de realización de estudios etiológicos no se cumplió en muchos casos. En este sentido, en muchas ocasiones el estudio genético se realizó después de pruebas complementarias que consideraban menos importantes como RM 1,5T en el 6,42% de las ocasiones, neuroimagen "no convencional" en el 27,98%, estudio metabólico ampliado en el 37,61% o biopsia músculo o piel en el 10,55% (genética aplazada) (**Figura 14**).

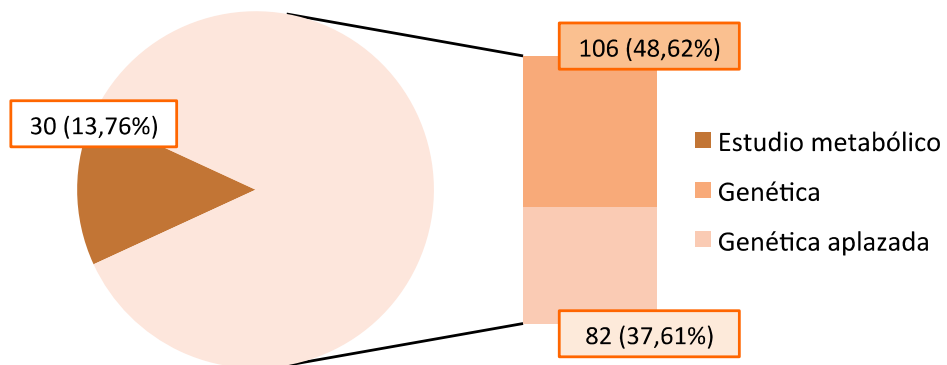
Genética vs Neuroimagen convencional



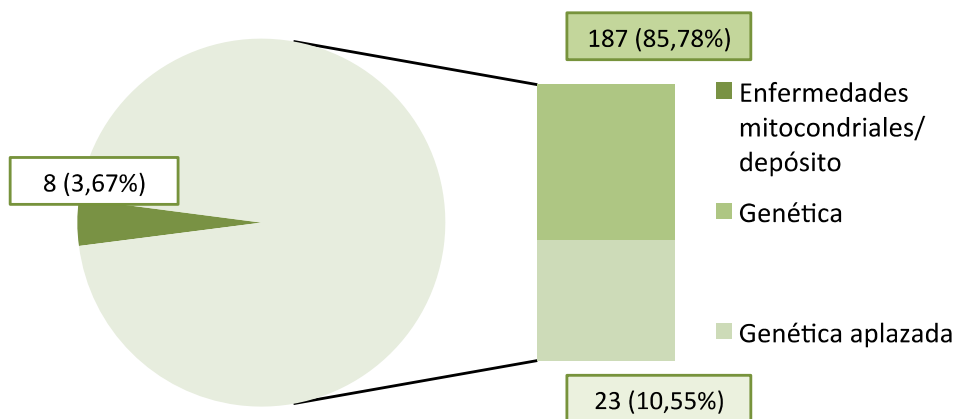
Genética vs Neuroimagen NO convencional



Genética vs Estudio Metabólico



Genética vs Enfermedades mitocondriales/depósito



7.4.5. Opiniones médicas sobre la utilidad del estudio genético

Se analizaron las 36 opiniones que los médicos consultados respondieron ante una pregunta abierta sobre la utilidad del diagnóstico genético: 27 comentarios abordaban aspectos positivos, mientras 9 contenían alguna crítica. En las Figuras 15 y 16 se analizan los aspectos respondidos por los facultativos preguntados y se incluye una frase de los comentarios que ejemplifica el aspecto comentado.

Figura 15. Aspectos positivos referidos por médicos respecto a la utilidad de los análisis genéticos

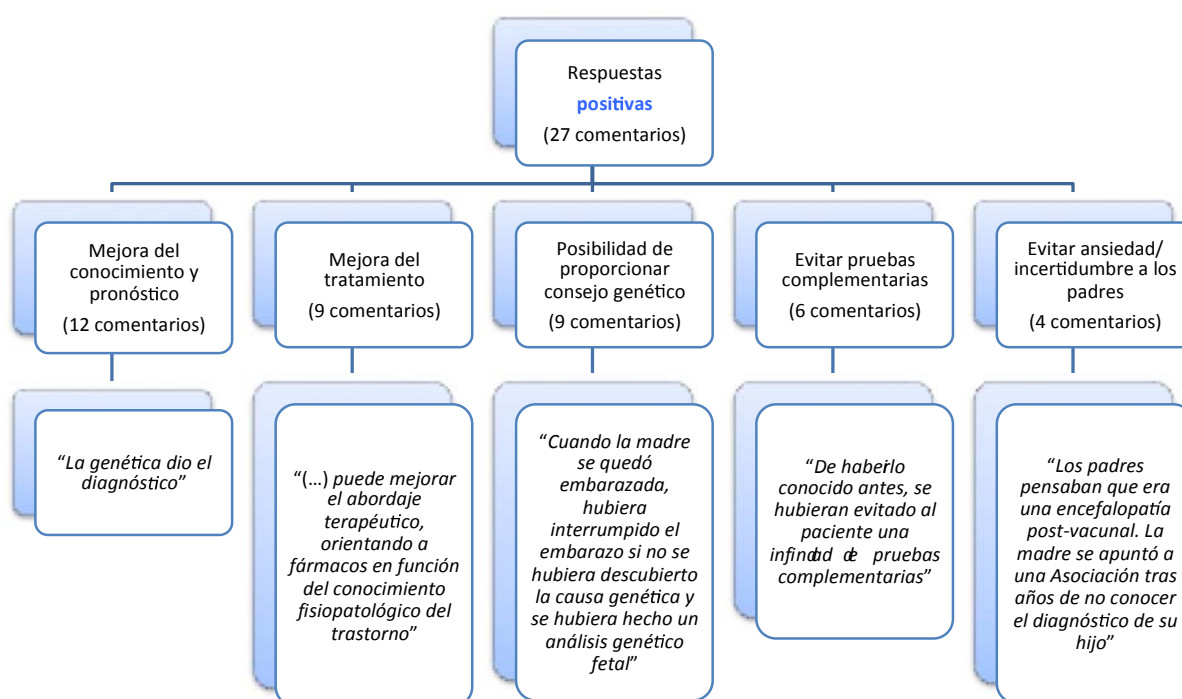
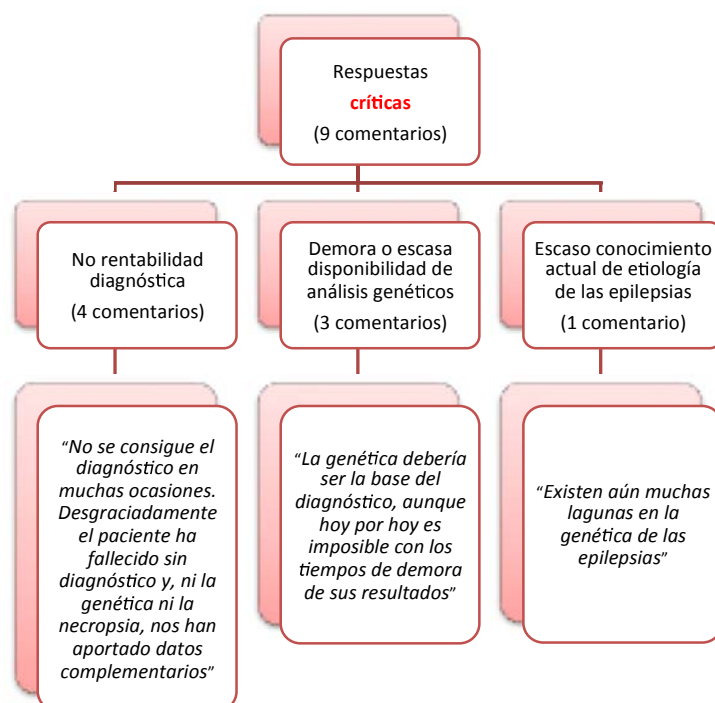


Figura 16. Aspectos críticos referidos por médicos respecto a la utilidad de los análisis genéticos.



7.5. UTILIDAD DEL ESTUDIO GENÉTICO PERCIBIDA POR EL PACIENTE Y/O FAMILIARES

7.5.1. Resultados generales de la encuesta acerca de la utilidad médica

Se analizaron **63** encuestas enviadas por pacientes o sus familiares. Debido a que muchos de los pacientes se encontraban en edad infantil o presentaban diferente grado de afectación cognitiva, generalmente fueron respondidas por sus familiares o cuidadores.

El tiempo desde la comunicación del resultado genético hasta que respondieron la encuesta fue de una mediana de 5 meses (RI:2-6) con un rango de 1-60, siendo menor en los 33 pacientes en los que se encontró una alteración genética, con una mediana de 3 meses (RI:1-22), con un rango de 1-60.

7.5.1.1. Utilidad en el conocimiento de la enfermedad

En general, los familiares estimaron que habían recibido suficiente información acerca del resultado genético (91,53%). Asimismo la mayoría referían que el estudio genético les proporcionó una mejor comprensión del trastorno (66,04%) y lo consideraban como una herramienta útil de investigación para seguir mejorando el conocimiento de la epilepsia (98,36%).

7.5.1.2. Utilidad en el manejo médico

Los familiares no sólo consideraban frecuentemente que los estudios genéticos proporcionarían una mejora en el tratamiento de los pacientes con epilepsia en un futuro (94,83%), sino que la mayoría también pensaba que esta mejoría se vería reflejada en el momento actual en diferentes aspectos médicos como evitar pruebas complementarias innecesarias (87,04%) y mejorar la terapia médica (66,67%).

7.5.1.3. Utilidad en calidad de vida

Las técnicas genéticas fueron consideradas como herramientas valiosas, tanto para el consejo genético como para la información a otros familiares sobre la heredabilidad de la epilepsia (71,19%). Asimismo un porcentaje no desdeñable las valoraron como útiles para mejorar la calidad de vida del paciente y/o familia (33,33%).

En general, el estudio genético se valoró como una prueba útil, con una media de valoración global de $7,33 \pm 2,78$ (rango 1-10), con una mediana de 9 (RI: 6-9))

7.5.2. Relación de las variables de la encuesta de utilidad en familiares con la presencia de alteraciones genéticas

Se estudió la relación entre la presencia de una alteración genética (patogénica o probablemente patogénica) con las variables de utilidad percibida por los familiares. En este análisis se identificó que el tener una mutación se asociaba de manera

estadísticamente significativa a una sensación de mayor utilidad del estudio genético (p 0,014), una mejoría de la calidad de vida ($p < 0,001$) y a otros aspectos de eficacia de la prueba como fueron la mejor comprensión del trastorno ($p < 0,001$) y la posibilidad de planificación familiar e información al resto de familiares sobre la heredabilidad de la epilepsia ($p < 0,001$) (Tabla XII).

Tabla XII: Variables de la encuesta de utilidad realizada a familiares según presencia de alteraciones genéticas.

	Sin mutación	Mutación	<i>P</i>
Comprender mejor la epilepsia			<0,001
No	14 (70%)	4 (3,8%)	
Sí	6 (30%)	29 (96,2%)	
Consejo genético y heredabilidad			<0,001
No	13 (56,5%)	4 (11,1%)	
Sí	10 (43,5%)	32 (88,9%)	
Mejor terapia de la epilepsia (presente)			0,066
No	10 (50%)	6 (20,7%)	
Sí	10 (50%)	23 (79,3%)	
Mejor terapia de la epilepsia (futuro)			0,556
No	2 (8,7%)	1 (2,9%)	
Sí	21 (91,3%)	34 (97,1%)	
Evitar pruebas complementarias			0,083
No	5 (26,3%)	2 (5,7%)	
Sí	14 (73,7%)	33 (94,3%)	

Análisis genéticos como herramienta			0,426
No	1 (3,8%)	0 (0%)	
Sí	25 (96,2%)	35 (100%)	
Mejoría de la calidad de vida			<0,001
No	19 (82,6%)	18 (56,2%)	
Utilidad	6,7 (\pm 3,1)	8,4 (\pm 2,3)	0,014

Al medir el grado de concordancia entre lo respondido por médicos y familiares acerca de la sensación de utilidad y otras variables clínicas como el consejo genético, evitar pruebas complementarias y la mejoría en el conocimiento de la epilepsia, sólo se encontró un grado de acuerdo moderado en esta última variable analizada con un valor de Kappa de 0,58 (intervalo de confianza del 95% entre 0,35 y 0,82).

En los 38 pacientes (60,32%) que presentaban alguna alteración genética se buscó alguna característica que se relacionara con parámetros de utilidad percibida por los familiares. Para ello se analizaron las variables de impacto en familiares recogida mediante encuesta y principales características clínicas y epidemiológicas (edad, exploración, comorbilidad con trastornos médicos, psiquiátricos o de aprendizaje, presencia de antecedentes familiares de epilepsia/trastorno de movimiento, edad de inicio y tipo de epilepsia, EE, especialidad, control de la misma, regresión, tratamientos empleados y especialidad del médico) sin encontrar ninguna asociación estadísticamente significativa.

7.5.3. Reacción de los familiares ante el resultado del estudio genético

Se preguntó a los familiares que cuantificaran en una escala tipo Likert (desde “mucho más” a “mucho menos”) tres sentimientos asociados a conocer el resultado del estudio

genético: ansiedad, tristeza y alivio. Los resultados se agruparon en tres variables: “menos” (incluye las respuestas “mucho menos” y “un poco menos”), “indiferente” y “más” (incluye las respuestas “un poco más” y “mucho más”).

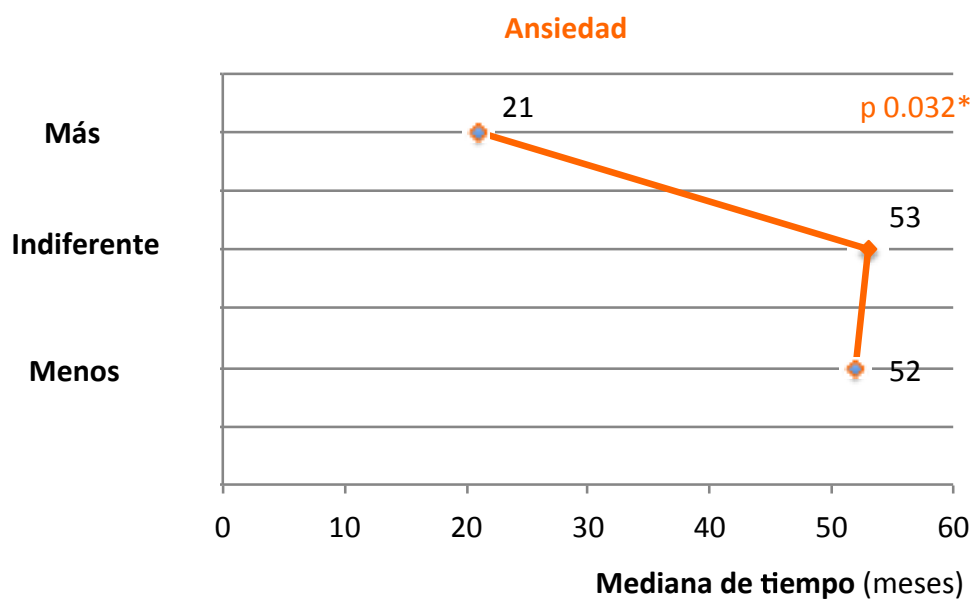
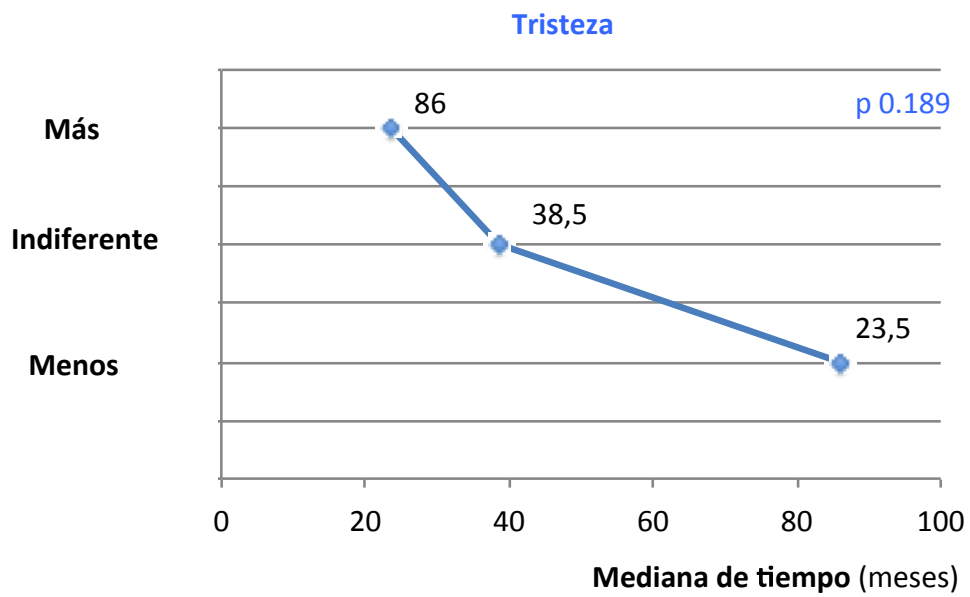
En un primer análisis global de la muestra, esta percepción fue descrita fundamentalmente en términos negativos o de indiferencia ante el resultado. En este sentido, sólo una minoría refirieron sentirse más aliviados (9,09%) o con menor sentimiento de ansiedad (27,88%) o tristeza (33,33%).

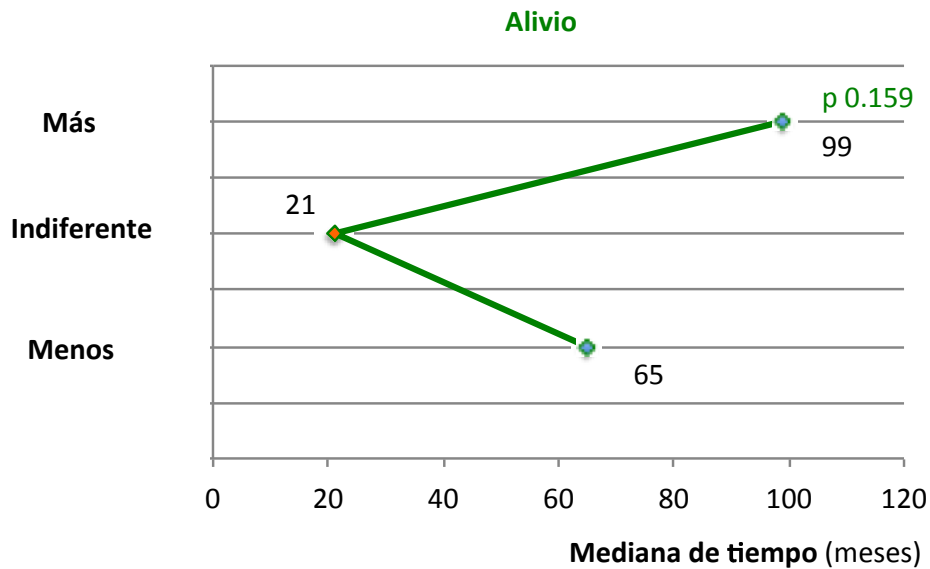
Cuando se estudió la relación de esta reacción con la presencia o no de alteración genética, se observó que los sentimientos de mayor tristeza o ansiedad se asociaron de forma estadísticamente significativa con que el paciente sufriera un defecto genético (Tabla XIII).

Tras analizar la asociación entre las características clínico-epidemiológicas en pacientes con mutación con las variables de respuesta de los familiares se encontró una relación inversa estadísticamente significativa entre el sentimiento de ansiedad y el tiempo transcurrido desde el inicio de la epilepsia hasta el resultado genético ($p < 0,05$) (Figura 17).

Tabla XIII. Variables de reacción de familiares según presencia de alteraciones genéticas.

	No mutación	Mutación	<i>P</i>
Ansiedad			0,008
Menos	13 (50.0%)	9 (25.7%)	
Indiferente	11 (42.3%)	11 (31.4%)	
Más	2 (7.7%)	15 (42.9%)	
Tristeza			<0,001
Menos	10 (38.5%)	4 (11.8%)	
Indiferente	16 (61.5%)	10 (29.4%)	
Más	0 (0.0%)	20 (58.8%)	
Alivio			0,409
Menos	0 (0.0%)	4 (18.2%)	
Indiferente	5 (41.7%)	8 (36.4%)	
Más	7 (58.3%)	10 (45.5%)	

Figura 17: Relación entre respuesta de familiares y tiempo hasta el diagnóstico genético.



7.5.4. Opiniones de los familiares sobre la utilidad del estudio genético

Se recogieron 17 opiniones emitidas por los familiares. La mayoría fueron (14 comentarios) positivos en los que se recogía la conveniencia de considerar los análisis genéticos como una herramienta "necesaria" para el estudio etiológico, así como resaltar otras utilidades como la mejoría del conocimiento de la epilepsia y la optimización del tratamiento. Cabe destacar tres comentarios acerca de la sensación de alivio tras conocer el resultado genético en padres que habían pensado durante años ser responsables de la epilepsia de su hijo (**Figuras 18 y 19**).

Figura 18: Opiniones positivas de los familiares acerca de la utilidad del estudio genético

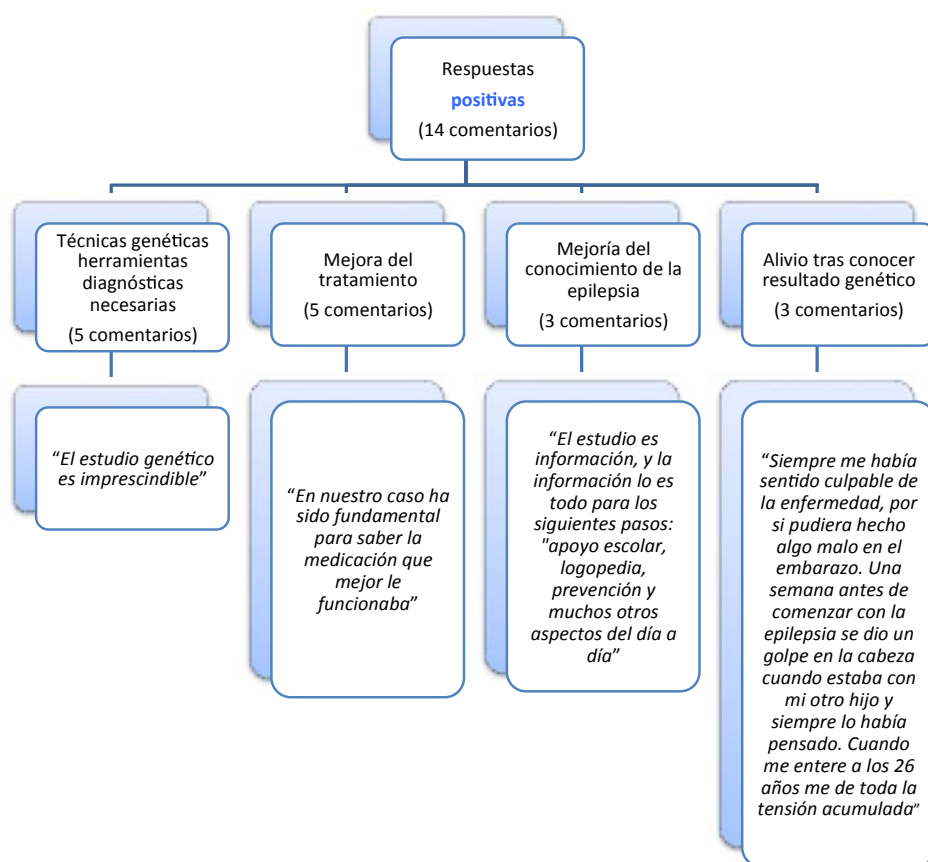
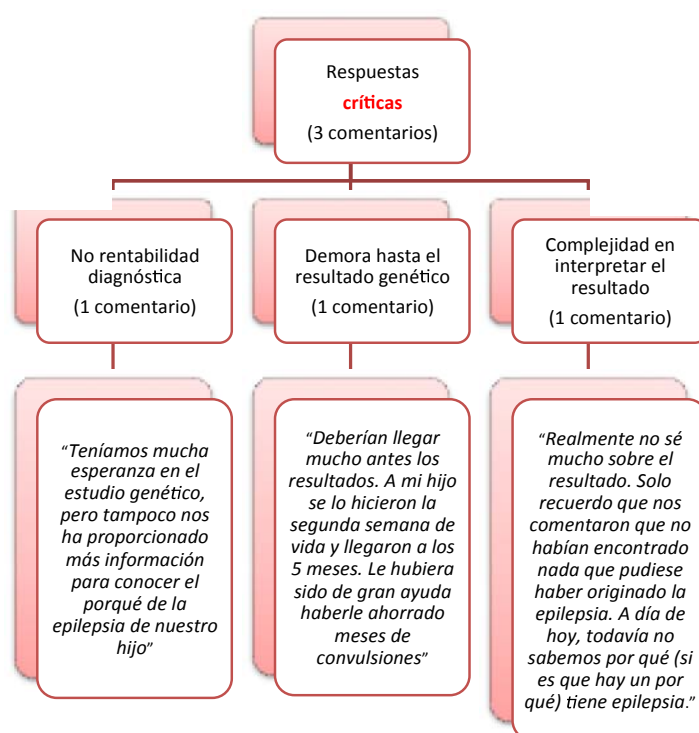


Figura 19: Opiniones críticas (negativas) de familiares sobre utilidad del estudio genético



7.6. ANÁLISIS DE COSTES DE LOS ESTUDIOS ETIOLÓGICOS

Se analizaron el coste de los estudios etiológicos de aquellos pacientes en los que se identificó una alteración genética. Para este cálculo se utilizaron los precios de referencia actualizados de los servicios sanitarios prestados por el Servicio Madrileño de Salud (o por los Servicios de Salud de las principales Comunidades Autónomas en los casos en que no especificara una determinada prueba complementaria), o por centros de referencia en los que se realizaron diferentes pruebas específicas como estudios metabólicos (Centro Diagnóstico de Enfermedades Moleculares, Madrid), estudios de enfermedades de depósito (Hospital Clinic, Barcelona) y de enfermedades genéticas (Laboratorio de Genética de Epilepsias y Servicio de Genética de la Fundación Jiménez Díaz y empresas CGC y Nimgenetics). El coste de los estudios de cadena respiratoria mitocondrial se obtuvo de precios de referencia referidos en la literatura¹⁷⁸ (Figura 20). No se consideraron los costes asociados a actividad (recursos humanos) o de los asignados a mantenimiento de equipos, ni de las consultas médicas. Asimismo, no se computaron los costes indirectos secundarios a hospitalizaciones relacionadas con la realización de pruebas complementarias o por reagudizaciones de la epilepsia que se hubieran evitado con un tratamiento específico dirigido por el resultado genético. Tampoco se cuantificaron los de aquellas pruebas complementarias que se realizaran dentro del manejo habitual de la epilepsia como realización de EEG o análisis de niveles de FAEs. De los estudios de diferentes especialistas, sólo se tuvieron en cuenta para el análisis las pruebas más representativas de forma que del estudio solicitado por Oftalmología sólo se cuantificó la realización de potenciales visuales, los potenciales evocados auditivos en estudio de ORL y la ecocardiografía en el estudio de Cardiología. Se comparó el coste de los estudios genéticos asociados a epilepsia con los estudios que se denominaron “no genéticos” que comprenden estudios de neuroimagen, de enfermedades metabólicas, mitocondriales y de depósito así como análisis genéticos no específicos de epilepsia.

Antes del inicio del análisis genético la media del coste medio por paciente de los estudios etiológicos no genéticos fue de 1.851,3€ con una mediana de 1.330,11€ (RI: 469,25-2.029,44)

(rango 0-1.851,3), mientras que el coste medio por paciente de las técnicas genéticas utilizadas fue de 868,29€, con una mediana de 580€ (RI 250-1.050) (rango 120-3.910). El precio de los estudios no-genéticos fue más caro en 58 pacientes (78,38%), mientras que el abordaje genético tuvo un precio mayor en 16 pacientes (21,62%)= (Tabla XIV).

Figura 20. Coste de las pruebas complementarias empleadas en los pacientes de nuestra cohorte

ESTUDIOS RADIOLÓGICOS	
<ul style="list-style-type: none"> Serie ósea Ecografía Ecocardiografía TAC craneal RM craneal RM espectroscópica PET 	<ul style="list-style-type: none"> 151,03 € 36,92 € 94,84 € 190 € 130 € 284,57 € 970 €
ESTUDIOS METABÓLICOS	
<ul style="list-style-type: none"> Analítica con perfil metabólico que incluye al menos las siguientes determinaciones: hemograma, sodio, potasio, cloro, calcio, magnesio, láctico, amonio, gasometría venosa, ferritina, urea, glucosa, creatinquinasa, ceruloplasmina. 	38,55 €
<ul style="list-style-type: none"> Estudio metabólico ampliado: <ul style="list-style-type: none"> Aminoácidos (sangre/orina/LCR) Ácidos orgánicos Ácido Láctico y ácido pirúvico Creatina y guanidinoacetato Metabolismo de purina y pirimidina Ácidos grasos de cadena muy larga Acilcarnitinas y carnitina libre Actividad de biotinidasa SAICAR Transferrina deficiente carbohidratos, isoformas (CDG) Ácido pipecólico Ácido α-aminoadípico Coenzima Q10 Neurotransmisores (+ pterinas) Piridoxal fosfato en LCR Tiamina en LCR 5-metiltetrahidrofolato en LCR 	<ul style="list-style-type: none"> 132 € (x3) 220 € 110 € 132 € 220 € 231 € 215 € 80 € 80 € 220 € 132 € 130 € 260 € 220 +160€ 120 € 120 € 110 €
<ul style="list-style-type: none"> Punción lumbar (citoquímica) 	306,61 €

ESTUDIOS NEUROFISIOLÓGICOS	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Potenciales evocados auditivos de tronco ▪ Potenciales evocados visuales ▪ Potenciales evocados somatosensoriales ▪ Electromiograma ▪ Otros estudios electrofisiológicos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 250,4 € ▪ 187,55 € ▪ 250,44 € ▪ 361,4 € ▪ 227,7 €
ESTUDIOS GENÉTICOS*	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cariotipo ▪ Hibridación fluorescente <i>in situ</i> (FISH) ▪ Estudio de expansión de tripletes de nucleótidos ▪ Panel multigénico de ataxias espino-cerebelosas ▪ MLPA (distintas Salsas) ▪ Array CGH ▪ Secuenciación directa del gen candidato ▪ Panel de genes (laboratorio de investigación) ▪ Panel de genes (empresa diagnóstico genético) ▪ Exoma clínico (Servicio Genética) ▪ Exoma clínico (empresa diagnóstico genético) ▪ Exoma completo (trío) ▪ Estudio de ADN codificante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 185 € ▪ 350 € ▪ 276 € ▪ 552 € ▪ 400 € ▪ 250 € ▪ 30 € exón ▪ 550 € ▪ 1.800 € ▪ 460 € ▪ 1.500 € ▪ 2.840 € ▪ 600 €
ESTUDIO DE ENFERMEDADES DE DEPÓSITO	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glucosaminoglucanos ▪ Oligosacáridos ▪ Actividad de α-galactosidasa (enfermedad de Fabry) ▪ Actividad de glucocerebrosidasa (enfermedad de Gaucher) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 50 € ▪ 200 € ▪ 148 € ▪ 148 €
BIOPSIAS	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Biopsia piel (microscopía electrónica) ▪ Biopsia muscular <ul style="list-style-type: none"> ○ Análisis inmunohistoquímico ○ Estudio de cadena respiratoria mitocondrial 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 588,99 € ▪ 366,62 € ▪ 2.598 € (3200 \$)¹⁷⁸
OTRAS PRUEBAS	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Polisomnografía ▪ Anticuerpos anti-superficie neuronal 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 426 € ▪ 136,5 €

*: Todas las alteraciones genéticas fueron confirmadas mediante secuenciación Sanger

TAC: tomografía axial computerizada; **RM:** resonancia magnética; **PET:** tomografía por emisión de positrones; **LCR:** líquido céfalo-raquídeo; **SAICAR:** succinil aminoimidazol carboxamida ribotido (estudio de adenilsuccinato liasa); **MLPA:** amplificación de múltiples sondas dependientes de ligación.

Tabla XIV. Comparativa de costes de estudios genéticos y no-genéticos

Caso	Coste estudios	Coste estudio
1	358,55	3620
2	168,55	780
3	1.393,55	960
4	1.842,6	780
5	1.887,89	1080
6	NID	780
7	1.145,55	780
8	168,55	580
9	NID	780
10	NID	1050
11	1.268,55	780
12	621,44	580
13	NID	780
14	NID	780
15	1.088,55	780
16	168,55	120
17	1.162,55	120
18	38,5	120
19	366,61	120
20	298,5	120
21	No pruebas	120
22	168,5	120
23	2.529,9	120
24	450	120
25	428,5	120
26	1.629,11	120
27	1.687,11	830
28	168,5	540
29	2.021,62	1900
30	5.233,33	2080
31	4.153,02	1830
32	2.778,68	1830
33	2.532,16	580
34	9.183,4	765
35	1.327,45	420
36	1.458,5	420
37	168,5	420
38	488,5	420
39	543,5	420
40	1.330,11	180

Caso	Coste estudios	Coste estudio
41	1.208,5	180
42	1.138,5	180
43	168,5	180
44	6.179,4	1015
45	8.293,82	2430
46	3.033,11	1280
47	2.847,99	2180
48	1.782,11	3055
49	2.239,18	350
50	1.727,11	300
51	600,3	300
52	2.713,93	3910
53	2.233,23	580
54	7.196,31	580
55	1.375,98	490
56	2.176,61	600
57	2.296,16	1210
58	3.128,61	920
59	168	3620
60	945	1630
61	2.800	1390
62	1.948,68	250
63	1.948,68	250
64	NID	NID
65	2.267,46	520
66	1.329,61	350
67	639,53	780
68	2.052,91	1800
69	1.019,5	880
70	3.044,11	1800
71	204,92	185
72	677,2	1800
73	168,5	1800
74	6.056,46	460
75	1.252,49	250
76	168,5	850
77	914,07	250
78	3.098,11	250
79	3.463,08	710
80	380,4	185

En varios casos, los médicos responsables hubieran preferido realizar pruebas genéticas antes que otros estudios que ya se habían realizado en el momento de inicio del estudio genético. En el caso de haber seguido las preferencias médicas en el orden de realización de pruebas complementarias se hubiera ahorrado la realización de pruebas de neuroimagen convencional en 11 pacientes con un coste medio por paciente de $333 \pm 293,54\text{€}$ (se duplicaron en 7 pacientes, en uno de los ellos se repitió RM cerebral hasta en 9 ocasiones), de técnicas de neuroimagen no convencional en 24 pacientes con un coste medio de $308,65 \pm 291,42\text{€}$ (se repitieron en 2 pacientes), estudios metabólicos ampliados en 28 pacientes con un coste medio de $1.358 \pm 706,31\text{€}$ y estudios de enfermedades mitocondriales en fibroblastos en 9 pacientes con un coste medio de $2.375,12 \pm 669,8\text{€}$.

En el caso de las epilepsias más graves como las EEs el coste de las pruebas genéticas fue mayor que en el global de pacientes con epilepsia de la muestra, con un coste medio por paciente de 1.060€ , mediana de 780€ (RI: $557,5-1.450$) (rango $180-3910$), al igual que en las técnicas no genéticas un coste medio por paciente de $2360,55\text{€}$ mediana de $1887,89\text{€}$ (RI: $982,25-2823,99$) (rango $168-9183,4$)

Al analizar el coste en duración (*lead time*), el tiempo medio transcurrido desde el inicio de la epilepsia hasta el inicio del estudio genético fue de 7,82 años, con un rango desde 1 mes hasta 46 años, y una mediana de 36 meses (6-132). En cambio, el tiempo medio empleado en las técnicas genéticas hasta la obtención del resultado fue de 1,26 años, con un rango de 1 mes hasta 9 años y una mediana de 6 meses (4-18).

8. DISCUSIÓN

8. DISCUSIÓN

Los avances en las técnicas genéticas producidos en los últimos años han revolucionado el conocimiento sobre la fisiopatología y clasificación de las epilepsias^{31,66,105,152}. En cambio, se conoce muy poco acerca de la utilidad de estos estudios. De hecho, en nuestro conocimiento, sólo se han reportado dos artículos que hayan analizado este aspecto en pacientes con epilepsia: uno mediante encuestas dirigidas a 244 médicos y familiares de pacientes con sospecha de síndrome de Dravet en los que se secuenció el gen *SCN1A*¹⁴⁵; y otro mediante una entrevista personal a 20 pacientes con epilepsias familiares¹⁴⁶. Ambos estudios concluyeron que el conocimiento de los resultados genéticos tuvo un impacto positivo en el ámbito médico y familiar. En esta línea, nuestro trabajo supone la serie más representativa de los diferentes tipos de epilepsia publicado hasta la fecha (218 pacientes, 24 tipos de epilepsia y 39 genes diferentes) en el que se demuestra que los estudios genéticos son útiles en diferentes aspectos médicos y tienen un impacto positivo en la calidad de vida de pacientes y familiares (anexo 6).

8.1. IMPACTO DEL ESTUDIO GENÉTICO EN LOS ASPECTOS MÉDICOS

1. Utilidad global

En general, el estudio genético se consideró útil en el manejo de la epilepsia, con una puntuación global referida por los médicos de $6,4 \pm 3,7$, siendo mayor en aquellos casos en que se había identificado una alteración genética con una media de $9,1 \pm 1,3$. El impacto positivo sobre el personal médico se pudo constatar especialmente en aquellos pacientes de menor edad y en los que menos tiempo transcurrió hasta obtener el resultado genético.

En los pacientes con resultado positivo, el sentimiento de utilidad fue mayor entre los neuropediatras (media de $9,2 \pm 1,2$) que entre los neurólogos (media de $8 \pm 1,7$). A pesar de

ser algo menor, esta elevada sensación de utilidad referida por los neurólogos consultados en nuestro estudio seguramente refleje el interés particular de estos facultativos, ya que en su mayoría fueron los peticionarios de las pruebas genéticas.

Por otra parte, los neuropediatras fueron los que en un mayor número de ocasiones tuvieron la oportunidad de proporcionar consejo genético (75,4%). Esto puede ser debido a que la población que atienden suele tener padres más jóvenes con mayor deseo de descendencia. Por el contrario, los neurólogos realizaron proporcionalmente más modificaciones en el diagnóstico y tratamiento (44,7% y 46,9% respectivamente). A pesar de estas importantes implicaciones clínicas, entre los neurólogos que atienden a pacientes adultos con epilepsia, los análisis genéticos no se solicitan de manera rutinaria. Esto se demuestra en un estudio realizado a 109 médicos de Estados Unidos. Ante la pregunta de si realizarían algún estudio genético a un paciente de 18 años con una epilepsia fármaco-resistente tipo síndrome de Lennox-Gastaut, el 80% de los neuropediatras respondieron afirmativamente frente al 30% de los neurólogos que atienden a adultos¹⁷⁹.

2. Utilidad en el diagnóstico

El estudio genético fue especialmente útil para modificar o confirmar el diagnóstico clínico en aquellos pacientes donde se identificó una alteración genética. Generalmente confirmó una sospecha o un diagnóstico previo en casi la mitad de los pacientes (40,2%), porcentaje algo menor que los expuestos en el estudio de Brunklaus *et al* (40,2% vs 78,5% respectivamente) debido, probablemente, a que en este último estudio la sospecha clínica de síndrome de Dravet es alta debido a que el fenotipo suele tener características más específicas^{59,145}.

En un porcentaje no desdeñable de pacientes (24,8%) la investigación genética provocó una modificación del juicio clínico. Este es el primer estudio en el que se analiza este aspecto de gran relevancia clínica para médicos y familiares. En el 8,7% de los pacientes

supuso un cambio en el pronóstico de su epilepsia. De estos cambios, en la mayoría de las ocasiones se modificaron diagnósticos previos de enfermedades degenerativas o de epilepsias que asocian una marcada morbilidad y/o refractariedad, los cuales fueron sustituidos por diagnósticos más favorables como epilepsias relacionadas con un aprendizaje normal y/o buena respuesta al tratamiento antiepiléptico. También fue importante en aquellos casos en los que la información genética supuso un cambio a un diagnóstico de peor pronóstico (7/19), en términos de ajuste pronóstico y optimización del tratamiento. Los pacientes en los que más modificaciones diagnósticas se realizaron fueron entre aquellos con epilepsias de mayor gravedad (66% de las EEs), hallazgo acorde con el hecho de que las causas genéticas explican un alto porcentaje de los diagnósticos etiológicos de las EEs^{97,102}.

Si bien la confirmación en el diagnóstico se realizó fundamentalmente en pacientes de menor edad (media de 7 años), las modificaciones diagnósticas ocurrieron generalmente en pacientes mayores (media de 10,2 años). Estos hallazgos confirman el hecho de que los cambios en el diagnóstico clínico no afectan únicamente a los pacientes más jóvenes. En los escasos estudios en los que se han realizado análisis genéticos en adultos con epilepsia es frecuente que se identifiquen y modifiquen diagnósticos previos. Harkin *et al*, en una muestra de 188 pacientes mayoritariamente adultos, encontraron alteraciones en el gen *SCN1A* en el 22% y en el 24% de los pacientes, los cuales habían sido diagnosticados erróneamente de epilepsias generalizadas o focales criptogénicas respectivamente¹⁸⁰.

Otro aspecto a destacar es que la aplicación de las pruebas genéticas permitió identificar a otros miembros afectados en 15 familias (6,88%). En algunos casos, la heredabilidad de la epilepsia era evidente como en las epilepsias tipo BFIS y/o discinesia paroxística cinesiogénica asociadas a alteraciones en *PRRT2*¹⁵⁰. En cambio, en otros genes con expresividad y penetrancia variable esta relación no es tan clara, como ocurrió en las cuatro familias con variantes patogénicas en *GRIN2A* en las que los portadores de la mutación podían ser asintomáticos o presentar una combinación de síntomas que incluía

epilepsia, trastornos del lenguaje o conducta¹⁵². Otro ejemplo es el de una familia con varios miembros portadores de una variante patogénica del gen *CACNA1A* expresándose en forma de epilepsia y/o migraña con o sin hemiplejía¹⁶⁸. La alta variabilidad fenotípica de estos genes relacionados con epilepsia obliga a sospechar una causa genética, no sólo en caso de antecedentes de epilepsia sino también ante la presencia de familiares con otra sintomatología neurológica (trastornos del movimiento y migraña entre otros), trastornos de aprendizaje o psiquiátricos¹¹⁴.

Tras las pruebas de neuroimagen, los estudios genéticos se consideran los más rentables para alcanzar el diagnóstico etiológico en las epilepsias⁶⁹. En un estudio elaborado por Wirrel *et al* en 2015 en el que se estudiaron 251 lactantes con espasmos epilépticos, la etiología se logró identificar mediante RM en 55%, mediante análisis genéticos en un 23,5% y mediante estudios metabólicos o mitocondriales sólo en un 4,5% de los pacientes¹⁸¹. Esta alta rentabilidad diagnóstica asociada a la alta expresividad fenotípica y variabilidad genética ha provocado un cambio en los algoritmos diagnósticos de estudio de las epilepsias, fundamentalmente en aquellas en que la etiología genética es más frecuente como en las EEs (**Figura 21**). Cuando se comenzaron a considerar los estudios genéticos como una herramienta diagnóstica de utilidad en el abordaje de las epilepsias¹⁸², la mayoría de los autores como Mastrangelo *et al* en 2012¹⁸³ proponían un estudio diagnóstico secuencial de genes dependiendo de las características clínicas, EEG y de neuroimagen. Pero debido a la alta heterogeneidad fenotípica y genética, estos mismos autores⁵⁸ sólo tres años después de haber propuesto un protocolo diagnóstico en EE, reconocían que su propuesta había quedado obsoleta. Actualmente se recomienda que, salvo cuadros dismórficos⁶⁴ o fenotipos claramente relacionados con defectos genéticos específicos como el síndrome de Dravet, síndrome de Rett, Angelman o BFIS/BFNS¹⁸⁴ las técnicas de secuenciación masiva son las pruebas de elección en el estudio etiológico de las epilepsias^{69,88}.

En la mayoría de síndromes epilépticos, las pruebas de neuroimagen suelen ser las primeras en indicarse al iniciar el diagnóstico, especialmente en las EEs. Si bien es cierto que debido

al proceso de mielinización, la RM puede no detectar MDC en el periodo del lactante y suele repetirse a partir de los dos años de edad, el porcentaje de pacientes en los que se encuentra una alteración morfológica cerebral en una segunda RM cerebral es bajo (en nuestra muestra del 0,9%). La necesidad de repetir pruebas de neuroimagen a los dos años de edad no debería ser causa de retraso en el inicio del estudio genético. Además, la presencia de alteraciones en la RM no excluye la búsqueda de alteraciones genéticas. De hecho, en un 40% de los pacientes de nuestra serie con lesión cerebral identificada en neuroimagen se reconocieron defectos genéticos: lisencefalia (gen *ARX*), disgenesia del cuerpo calloso (gen *GRIN1*), malformación de fosa posterior (translocación cromosoma 15) y esclerosis mesial (duplicación gen *CNTN6*)^{14,57,152}.

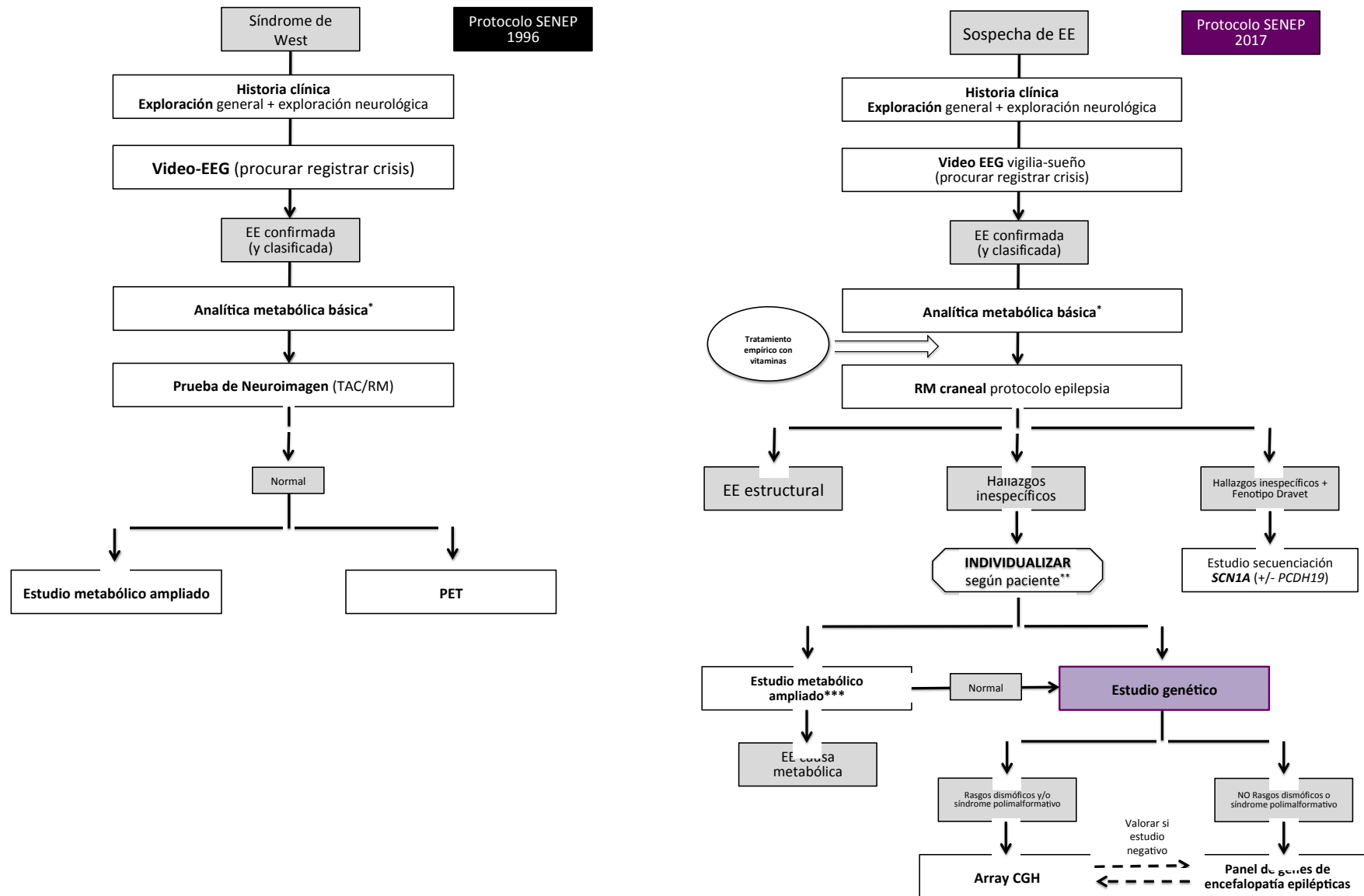
3. Utilidad en el manejo terapéutico

En el 15,5% de los estudios genéticos, el resultado conllevó cambios en el tratamiento médico, especialmente en aquellos pacientes en los que se identificó un gen causal. Estas modificaciones terapéuticas provocaron una mejoría clínica en el 4,5% de los casos. Estos porcentajes son menores que en el estudio de Brunklaus y colaboradores¹⁴⁵ realizado en personas afectas de síndrome de Dravet en el que referían que, tras la identificación de mutaciones en el gen *SCN1A*, se realizaron cambios en el tratamiento en el 55% de los pacientes, lo que se tradujo en una mejoría en el control de crisis y aprendizaje en el 69% y 34% de los casos, respectivamente. Estas diferencias pueden deberse a la homogeneidad de su muestra, ya que en pacientes con mutación del gen *SCN1A* existen unas recomendaciones específicas de tratamiento³⁴, mientras que nuestra muestra es más heterogénea e incluye a genes para los que aún no existen recomendaciones de tratamiento específicas.

Una disciplina médica en continuo desarrollo, especialmente en los últimos años, es la farmacogenómica, de forma que se conocen cada vez más factores genéticos que influyen en distintos aspectos de respuesta al tratamiento (farmacocinética-

farmacodinámica) como por ejemplo algunos polimorfismos del gen *CYP2C9* que se asocian con los niveles séricos de fenitoína¹⁸⁵ o como el haplotipo HLA-B*15:02 que se asocia con el síndrome de Stevens-Johnson secundario al tratamiento con carbamazepina¹⁸⁶. Además, gracias a los diferentes estudios genéticos en distintos modelos animales se ha producido un avance significativo en el conocimiento de la fisiopatología de la epilepsia y de los trastornos del neurodesarrollo asociados¹⁸⁷. Todo estos avances están favoreciendo el desarrollo de terapias específicas e individualizadas³¹. Este tratamiento integral del paciente, no solo de sus crisis sino también de los trastornos en el aprendizaje asociados, es de especial importancia en epilepsias de inicio en edad infantil, en las que las alteraciones en el desarrollo psicomotor son el factor que más afecta a la calidad de vida de pacientes y familiares. En nuestra población, se iniciaron modificaciones terapéuticas específicas en pacientes con mutación en los siguientes genes: *SCN1A* (en 9 pacientes en los que se añadió stiripentol y/o evitaron bloqueantes de los canales del sodio), *KCNQ2* (en 4 pacientes en los que se añadieron bloqueantes de los canales del sodio y/o piridoxina), *KCNA2* (en los 2 pacientes con mutación GOF en los que se añadió aminopiridina y en el paciente con mutación LOF en el que inició acetazalamida), *GRIN2A* (en 3 pacientes, los cuales están pendiente de iniciar tratamiento con memantina¹⁸⁹), *PRRT2* (en 3 pacientes, en uno de los cuales se retiraron FAEs debido al pronóstico favorable de su epilepsia), *MECP2* (en 2 pacientes, en uno de las cuales se inició tratamiento con topiramato dirigido a las crisis de hiperventilación), *CDKL5* (en 1 paciente en el que se retiró el tratamiento con cofactores tras rechazar el diagnóstico de enfermedad metabólica), en 2 pacientes sin mutación (en uno de los cuales no se inició dieta cetogénica al no hallarse alteración en gen *SLC2A1* y en otros 4 pacientes con alteración en los genes *STXBP1*, *GRIN1* y *CACNA1A*. En la literatura se recogen tratamientos específicos en pacientes con alteraciones en otros genes no referidos en nuestro estudio como son *DEPDC5*, y *TSC1/TSC2* (con inhibidores de la vía mTOR), *KCNT1* (quinidina, aunque con dudosa eficacia), *SCN2A* (con inhibidores de los canales de sodio) entre otros^{144,185}.

Figura 21. Cambios de protocolo de estudio etiológico en encefalopatías epilépticas^{182,198}



El hecho de que la sustitución del tratamiento sólo haya repercutido en una mejoría clínica en 10 pacientes puede ser debido a que en muchos casos no se disponía de información acerca de la evolución clínica o estaban pendientes de iniciar el tratamiento o de analizar su eficacia (9 pacientes).

Por otra parte, es altamente recomendable que se incluya dentro de las técnicas de secuenciación masiva el análisis de genes responsables de enfermedades metabólicas subsidiarias de tratamientos específicos, especialmente en aquellas epilepsias de inicio precoz, como son: GLUT1 (gen *SLC2A1*), epilepsia dependiente de piridoxina (gen *ALDH7A1*), epilepsia dependiente de piridoxal-fosfato (gen *PNPO*) o síndromes de deficiencia de creatina cerebral (genes *GAMT* o *AGAT*)¹⁵. Los dos pacientes de nuestra muestra con variantes patogénicas en *SLC2A1* (casos 50 y 51), tras el inicio de dieta cetogénica mostraron un control completo de crisis y en uno de ellos una mejoría de su trastorno de movimiento discinético-coreico.

Aunque en el estudio de Brunklaus *et al*¹⁴⁵, un diagnóstico precoz (antes de los dos años tras el inicio de las crisis) se relacionó con más frecuentes y eficaces cambios de tratamiento, en nuestra serie no encontramos esa relación con la edad del paciente ni con el tiempo transcurrido hasta la obtención del resultado genético. De hecho, muchas de las modificaciones del tratamiento se realizaron en adultos (28,1%). En nuestra opinión, esto significa que la optimización de tratamiento se traduce en una mejoría en la calidad de vida a cualquier edad. En esta línea, en un estudio realizado por Cantarino *et al*¹⁸⁵ en 22 pacientes a los que se les diagnosticó de síndrome de Dravet en edad adulta (media de 39 años con un rango de edad de 20 a 66 años), un tratamiento con FAEs específicos en este tipo de epilepsia provocó una mejoría no sólo en el control de las crisis sino también del nivel cognitivo

Conocer la causa genética también puede evitar tratamientos quirúrgicos. Si bien las mutaciones en el gen *SCN1A* pueden asociarse al MDC en el 3,5% de los pacientes, la cirugía de epilepsia en estos casos no suele conllevar buenos resultados. En un estudio

realizado por el grupo de Skjje *et al*¹⁹⁰ en el que analizaron los resultados quirúrgicos de 8 pacientes con epilepsias focales y MDC que presentaban una mutación en este gen, no refirieron ninguna reducción de crisis tras la cirugía de epilepsia. Teniendo en cuenta lo anteriormente citado, en uno de los pacientes de nuestra muestra (caso 4), diagnosticado previamente de EF criptogénica, a los 17 años se descubrió que era portador de una variante patogénica del gen *SCN1A*, tras lo que se desestimó la posibilidad de realizar cirugía de la epilepsia.

4. Utilidad en la mejoría en el conocimiento de la epilepsia

Aproximadamente la mitad de los médicos consultados consideraron que el estudio genético aumentó su información acerca de la epilepsia, especialmente en estudios con resultados positivos. En estos casos, la gran mayoría (independientemente de las características clínicas del paciente) refería que mejoró tanto el conocimiento propio (95%) como el de los familiares (97,5%). Estos datos son equiparables a los descritos en el estudio de Brunklaus *et al* (98%)¹⁴⁵.

El conocer el defecto genético de las epilepsias implica no sólo comprender la historia natural de las crisis sino el de las comorbilidades asociadas¹⁹¹. En ocasiones también permite diagnosticar otras enfermedades incluso en fase pre-sintomática¹³⁹. En este sentido, hay que destacar el concepto de “muerte súbita inexplicada del paciente con epilepsia” (SUDEP) que ocurre en aproximadamente 1/1.000 pacientes con epilepsia, siendo este porcentaje mucho mayor en epilepsias secundarias a alteraciones en genes como *SCN1A* (9.32/1000 habitantes por año) y en menor medida en los genes *SCN8A*, *SCN2A* y *DEPDC5*¹⁹².

La epilepsia es una de las enfermedades que más estigma social, familiar y del propio paciente suele conllevar, estimándose hasta en un 16-51% de los pacientes diagnosticados. Aunque la relación es compleja y poco estudiada, se espera que el mayor conocimiento de la enfermedad, mediante los estudios genéticos, se refleje en un menor grado de estigmatización¹⁹³⁻¹⁹⁴. Varios padres de los pacientes de nuestra muestra (previo al estudio

genético) en los que se descubrieron alteraciones genéticas achacaban el origen de la epilepsia de manera errónea a eventos prenatales (infecciones, traumatismos o ansiedad materna), perinatales (partos traumáticos o prolongados), adquiridos (traumatismos craneales) o iatrogénicos (vacunación). En esta línea, uno de los estudios en el que mejor se demuestra la importancia práctica del conocimiento fisiopatología de la epilepsia es el que realizó el grupo de Berkovic *et al*¹⁹⁵. Al evidenciar que la mayoría de las encefalopatías consideradas post-vacunales eran secundarias a defectos en el gen *SCN1A*

5. Utilidad para proporcionar consejo genético

Tras la comunicación de los resultados se pudo proporcionar un consejo genético en el 38% de los pacientes de nuestro estudio. El cálculo del grado de heredabilidad en aquellos en los que no se identifica un gen causal se basa exclusivamente en estudios poblacionales⁶⁷. En cambio, la identificación del gen responsable de un tipo de epilepsia se relaciona con un mejor asesoramiento genético al paciente y a sus familiares, como se demuestra en nuestra serie en la que el consejo genético se pudo ofrecer mayoritariamente a los pacientes con epilepsia y alteración genética identificada (87%). Estos resultados son similares a los encontrados por Brunklaus *et al* (83%)¹⁴⁵.

Los familiares de personas con epilepsia suelen sobre-estimar el riesgo de recurrencia de la enfermedad, generalmente cuatro veces más de la incidencia real¹⁹⁴. Esto se refleja en decisiones reproductivas, como es el caso del estudio de Helbig y colaboradores¹⁹⁶ en 88 adultos con epilepsia en el que se señalaba que el 34% de los mismos habían decidido no tener hijos, especialmente por el miedo de que su descendencia desarrollara epilepsia. Por ello una demanda habitual de los pacientes con epilepsia es recibir un mejor asesoramiento reproductivo que les permita conocer el riesgo real de transmisión y así poder aplicar técnicas de diagnóstico pre-implantacional y valorar diferentes opciones reproductivas¹⁹⁴. En nuestro estudio, el consejo genético se proporcionó más frecuentemente en los casos de menor edad al inicio del estudio y en los que en menos tiempo se identificó el gen causal,

así como también en los casos de EEs. Las primeras dos variables parecen relacionarse con padres más jóvenes con más probabilidades de deseo reproductivo, mientras que la preocupación de la transmisión de enfermedad es mayor en epilepsias más graves¹⁹⁴.

El consejo genético, aunque fundamental en el asesoramiento familiar, no se encuentra exento de dificultades en su aplicación. La diferente penetrancia y expresividad, tanto genética como fenotípica, así como la posibilidad de presencia de mosaicismos germinales suponen que este asesoramiento deba realizarse por un equipo multidisciplinar especializado y experimentado^{30,61}.

6. Utilidad en evitar pruebas complementarias

Desde la identificación del primer gen relacionado con epilepsia se ha estimado que los estudios genéticos podrían evitar innecesarias, costosas (en términos de tiempo y gasto económico) y, en muchos casos, cruentas pruebas complementarias^{43,143-144}. El 41,2% de los médicos encuestados consideraron que el abordaje genético hubiera permitido evitar la realización de nuevas pruebas complementarias para el estudio etiológico de la epilepsia, porcentaje algo menor que el referido en el estudio de Brunklaus *et al* (67%)¹⁴⁵. En cambio, si sólo consideramos aquellos pacientes en los que se identificó una alteración genética, en casi todos (92,5%) se evitaron nuevos estudios diagnósticos.

Existe un beneficio evidente en no haber realizado pruebas que ocasionaran una exposición a radiación ionizante como el PET (2,3%), o procedimientos agresivos-dolorosos como punciones lumbares (11,5%), biopsias musculares (5,9%), biopsias de piel (4,1%) o electroneurograma-electromiograma (0,05%). Además, se pudieron evitar en el 12,4% de los pacientes otras técnicas aparentemente más “seguras” como es el caso de la RM. La mayoría de los pacientes de nuestra serie presentaban trastornos cognitivos o de conducta que impedían la realización de pruebas de neuroimagen sin procedimientos anestésicos que limitaran los artefactos de movimiento. Aparte de las complicaciones inmediatas de las

técnicas anestésicas fuera del contexto quirúrgico, cada vez existe más evidencia científica que identifica la exposición a agentes anestésicos en menores de 4 años como un factor de riesgo de desarrollo posterior de trastornos de aprendizaje¹⁹⁷.

Por otro lado es importante tener en cuenta que en pacientes con epilepsia suele ser difícil encontrar la etiología, lo que conlleva una repetición del número de pruebas complementarias. En nuestro estudio, en 67 pacientes se repitió una RM a pesar de no encontrar una lesión que justificara el cuadro (en uno de los pacientes se realizó en 9 ocasiones, todas ellas necesitando anestesia), mientras que los estudios metabólicos ampliados y los estudios neurofisiológicos se repitieron en 11 y 2 pacientes, respectivamente.

Entre aquellos sujetos con defecto genético confirmado, fue entre los más jóvenes y en los que menos tiempo transcurrió hasta obtener el resultado genético en los que más frecuentemente se ahorraron estudios etiológicos. Esta asociación puede deberse a que el mayor esfuerzo diagnóstico suele ser tras el debut de la epilepsia por lo que un diagnóstico precoz puede evitar la realización de estudios etiológicos innecesarios.

En las epilepsias más graves, como las EEs es donde más pruebas complementarias suelen realizarse⁷¹. Sorprendentemente, en nuestro estudio este tipo de epilepsias fue donde menos estudios diagnósticos se evitaron. Esto puede explicarse al analizar las características de los únicos 6 pacientes con EE en los que no se evitaron pruebas complementarias: uno había fallecido y en los otros cinco la mediana de edad era de 40 años, mucho mayor que la mediana de edad de la muestra que era de 9 años.

Como ya se ha comentado los estudios genéticos cada vez se realizan de forma más precoz en el algoritmo diagnóstico aplicado¹⁹⁸. Así, la mayoría de los médicos encuestados generalmente preferían realizar en un primer escalón diagnóstico una RM convencional de 1,5T (85,8%) o técnicas de neuroimagen más específicas como RM de 3T, con espectroscopía o PET (79,8%). Pero el segundo abordaje diagnóstico considerado de elección en caso de no encontrar una causa estructural era un estudio genético, antes que la realización de estudios para determinación de enfermedades metabólicas (86,2%) o

mitocondriales-depósito (96,3%). Esto contrasta con el hecho de que a pesar de haber preferido realizar un estudio genético, en un alto porcentaje de los casos se realizaron antes otras pruebas complementarias como neuroimagen no convencional (27,5%), estudios metabólicos ampliados (37,6%) o biopsias de piel/músculo (10,5%). Esta incoherencia en la selección de los estudios médicos puede deberse, al menos en parte, a dificultades en la financiación de dichas pruebas o a la demora percibida en recibir los resultados. Estos dos problemas están disminuyendo significativamente desde la incorporación en la práctica clínica habitual de técnicas NGS⁴¹.

7. Utilidad de los resultados genéticos negativos

Como hemos señalado previamente el estudio genético fue más útil cuando se encontró una alteración genética patogénica (o probablemente patogénica). Pero al igual que lo referido en el estudio de Brunklaus *et al*¹⁴⁵ un resultado genético negativo también fue considerado útil en diferentes aspectos: modificó diagnósticos previos en siete pacientes (5,1%), se evitaron pruebas complementarias en hasta dieciséis pacientes (11,6%), se modificaron tratamientos en dos pacientes (1,4%) y treinta y seis médicos lo consideraron útil para aumentar el conocimiento acerca de la epilepsia (26,1%) de los pacientes que trataban.

8. Aspectos negativos de los estudios genéticos

Se objetivó una gran demora desde el inicio de la epilepsia hasta que se solicitó un estudio genético en la mayoría de los pacientes (mediana de tres años). Para explicar este retraso en el inicio del abordaje genético debe considerarse que el primer gen relacionado con epilepsia se describió en 1995⁵⁰ y que la irrupción de las técnicas de secuenciación masiva en la práctica clínica no se produjo hasta 2005, lo que explicaría que muchos de los adultos

que iniciaron su epilepsia en edad infantil, fueran remitidos para estudios muchos años después del debut de su epilepsia⁵⁴.

Hubo cinco médicos que señalaron la escasa rentabilidad diagnóstica de los análisis genéticos. Si bien es cierto que las técnicas genéticas no suelen identificar la etiología en epilepsias como las generalizadas¹¹⁵, en otros casos puede determinar la causa de un gran número de epilepsias, tanto en las graves (40-66% en epilepsias de inicio neonatal o 85-90% de síndrome Dravet)^{59,89-90,199}, como en las de mejor pronóstico (75-85% de BFNS y BFIS)¹²⁶⁻¹²⁷.

Como hemos apuntado previamente, el abaratamiento de los costes y el menor tiempo en la realización de las técnicas NGS permitirán solventar en la mayoría de los casos la sensación de retraso en el resultado genético referido por algunos médicos encuestados⁵⁴. El elevado tiempo empleado en la realización de las pruebas genéticas puede explicarse, al menos en parte, porque el abordaje genético de los primeros pacientes estudiados por EEs consistía en la secuenciación ordenada de genes candidatos incrementando la demora. La aplicación de las técnicas de NGS, que contribuyen a disminuir el tiempo en emitir un diagnóstico fue posterior.

El uso cada vez más generalizado de las técnicas NGS implica la aparición de resultados que generan incertidumbre para el médico y los pacientes como son la identificación de hallazgos incidentales, alteraciones en genes candidatos y VUS. En nuestro estudio, el porcentaje de VUS es del 11,2%, ligeramente inferior al de otras series que sitúan este porcentaje entre un 10 y un 40%⁴⁴. Identificar alteraciones que no se encuentran claramente relacionadas con el trastorno estudiado no es una característica exclusiva de los estudios genéticos. Así pues, la presencia de hallazgos inespecíficos en pruebas de neuroimagen o analíticas es relativamente frecuente. De hecho, en siete pacientes de nuestra serie se repitieron estudios metabólicos ampliados por este motivo.

8.2. IMPACTO DEL ESTUDIO GENÉTICO EN PACIENTES Y FAMILIARES

Este es el primer estudio en que se señala que la identificación de una causa genética de la epilepsia se traduce en una mejoría de la calidad de vida del paciente y/o familiares, lo que sucedió en casi la mitad de los casos. Son muchos los elementos valiosos que son aportados por las técnicas genéticas que pueden redundar en una mejor calidad de vida. En general, disponer de un diagnóstico genético en cualquier enfermedad neurológica es percibido como positivo por los familiares en diferentes aspectos tales como finalizar una larga búsqueda etiológica (en muchos casos definida por los padres como una "odisea"), mejorar el conocimiento de la enfermedad, precisar el pronóstico y poder definir el riesgo de recurrencia²⁵. En el estudio del grupo de Okeke²⁰⁰ la mayoría de los 145 adultos con epilepsia y de los 165 miembros asintomáticos de familias con epilepsia mostraban un especial interés en que se realizara un análisis genético de su epilepsia. En esta línea, la mayoría de los familiares o pacientes con epilepsia de nuestro estudio consideraron que la búsqueda de una causa genética había sido útil, con una elevada media de valoración global. Asimismo, ninguno de los médicos observaron reacciones negativas por parte de los padres al recibir el resultado.

Al igual que lo que se apunta en el estudio realizado por Vears *et al*¹⁴⁶ en 20 adultos con epilepsias genéticas, los familiares de nuestro estudio consideraron que el estudio genético era beneficioso como herramienta de investigación (98,4%) y para el cuidado del paciente con epilepsia (66,7%). Además, la gran mayoría se mostraban esperanzados con la posibilidad de mejoría futura en el manejo médico (94,8%), En los pacientes en los que se identificaron alteraciones genéticas el análisis genético se consideró de especial interés tanto para comprender mejor la enfermedad (96,2%) como para informar acerca de la heredabilidad de la epilepsia al resto de familiares (88,9%). En el estudio de Brunklaus *et al*¹⁴⁵ que incluía 187 padres de pacientes con síndrome de Dravet se apuntan cifras similares; es decir, la mayoría de los padres pensaban que la búsqueda de un gen causal había supuesto un cambio en el tratamiento (55%) y les habría permitido recibir información acerca del riesgo de recurrencia en familiares (87%).

Aunque la mayoría de los familiares (91,5%) consideraron que habían recibido una información adecuada acerca del estudio genético realizado sólo se encontró un grado moderado de concordancia entre las respuestas de los médicos y la de los familiares acerca de la utilidad percibida en el conocimiento de la epilepsia. Debido a la complejidad de interpretar, transmitir y comprender las implicaciones diagnósticas de los resultados genéticos, es probable que haya que tener en cuenta una probable interpretación errónea de los resultados por parte de los familiares y pacientes.

Los padres de niños con epilepsia suelen presentar trastornos de ansiedad y depresión, lo que claramente repercute negativamente en la calidad de vida de los pacientes y familiares²⁵. Los factores de riesgo identificados en la aparición de estos trastornos son: un mayor número de FAEs para el control de crisis, fármaco-resistencia y mayor frecuencia de crisis. La reacción de los padres ante el conocimiento de la causa de la enfermedad de sus hijos, ya sea neurológica o no, no es uniforme y depende de variables individuales y del contexto en el que se ofrece esta información. De esta forma, podemos observar que los sentimientos referidos abarcan un gran espectro que incluye desde los más positivos como optimismo, alivio y ajuste de expectativas pronósticas, hasta los más negativos como evitación, miedo al estigma, frustración o culpabilidad. En general, se asume que cuando las características de la etiología encontrada son estables e incontrolables, como ocurre en el caso de las alteraciones genéticas, suele afectar negativamente al individuo que padece la enfermedad²⁰¹. Esta situación se ve reflejada en nuestro estudio en el que sólo una minoría sintieron menos ansiedad (25,7%) y tristeza (11,8%) tras conocer el resultado positivo. Este hallazgo contrasta con otros estudios que apuntan a que el conocimiento de la causa genética se asocia a una menor ansiedad paterna²⁰². Esta discrepancia puede deberse a que los padres de nuestra muestra habían recibido los resultados genéticos muy poco tiempo antes de que se respondiera la encuesta. Si bien son muy escasos los estudios longitudinales, parece identificarse que cuanto mayor es el tiempo transcurrido desde la comunicación del resultado etiológico, menores son los sentimientos negativos de los padres²⁵. Este aspecto se ve reflejado en nuestra serie, ya que los sentimientos de ansiedad

y de tristeza de los padres encuestados fueron menores cuanto más tiempo transcurrió desde que conocieron la causa genética. De igual forma, cuanto mayor es el conocimiento de la epilepsia, el grado de estigma y las reacciones negativas de los padres/paciente disminuyen. Por ello, la realización de charlas divulgativas sobre epilepsia a la sociedad civil favorece la integración de estos pacientes y, paralelamente, disminuye la estigmatización de los mismos así como las reacciones negativas de los progenitores¹⁹³⁻¹⁹⁴. Aún así, a pesar de estos sentimientos iniciales negativos ante el diagnóstico genético, la mayoría de los médicos refirieron una reacción positiva por parte de los padres, especialmente entre aquellos en los que se identificó un gen responsable (87,3%).

En este tratamiento integral es necesario optimizar el apoyo psicosocial, para lo cual el apoyo y asesoramiento de asociaciones de pacientes juegan un papel fundamental. Cabe destacar que tras el resultado genético, dos de los padres de los pacientes de nuestro estudio fundaron asociaciones específicas relacionadas con el gen alterado: Asociación *KCNQ2* España y la futura Asociación de Pacientes *KCNA2*.

8.3. COSTES DEL ESTUDIO GENÉTICO

Con relativa frecuencia, la búsqueda del diagnóstico en enfermedades neurológicas suele ser larga y costosa. Debido a las características de nuestra muestra (sesgo de selección por incluir únicamente epilepsias con sospecha de una causa genética) no se realizó un estudio de coste-efectividad, pero sí se pudo realizar una comparación entre los costes derivados de los análisis genéticos y de los estudios no-genéticos realizados entre aquellos pacientes con epilepsia en los que se encontró una alteración genética.

En el estudio realizado en Estados Unidos por el grupo de Soden *et al*²⁰³ se descubrieron variantes patogénicas (mediante secuenciación exómica) en 53 de 119 niños (44,5%) con diferentes trastornos del neurodesarrollo, entre ellos epilepsia. Calcularon un precio medio por paciente de las pruebas no-genéticas de 19.100\$, mientras que el precio de la

secuenciación exómica (trío) ascendía a 7.640\$. Los autores concluían que el análisis genético era una herramienta coste-eficiente en niños con patologías neurológicas. El único estudio que compara los dos tipos de estudio (genéticos y no genéticos) en epilepsias es el realizado por Joshi *et al*¹⁷⁸, también en Estados Unidos, en 4 pacientes con crisis de inicio en los primeros meses de vida y diferente afectación neurológica en el que se identificaron las mutaciones mediante secuenciación exómica. Los autores calcularon que el importe medio de los estudios no genéticos fue de 9.015-35.483\$ por paciente mientras que el estudio genético (exoma) fue de 6.100\$ por paciente. En nuestro estudio también encontramos esta diferencia de coste, de forma que los estudios no-genéticos fueron más costosos que las técnicas genéticas. Este mayor coste de las pruebas no-genéticas se pudo constatar en el 78,4% de los pacientes. El precio medio de los estudios etiológicos no-genéticos fue 1.851,3€ por paciente, casi 1.000 euros más que los estudios etiológicos genéticos cuyo coste medio fue de 868,29€ por paciente. Es probable que esta diferencia de precios fuera aún mayor si este estudio se realizara en los próximos años por dos motivos: a) el abaratamiento progresivo de las técnicas genéticas⁵⁷; b) la estrategia de búsqueda de los primeros pacientes incluidos fue el análisis secuencial de varios genes, lo que incrementa el coste.

Hoy sabemos que las técnicas NGS son más coste-eficiente. Así por ejemplo, la cuantía de la secuenciación de un gen como *SCN1A* con 26 exones asciende a 780€ (sin incluir análisis de CNVs por MLPA) y la realización de un exoma clínico (que permite secuenciación paralela de cientos de genes) es de 460€.

Esta mayor rentabilidad de los estudios genéticos fue más evidente cuanto más graves fueron las epilepsias, como es el caso de las EEs. Las características regresivas de las mismas suele acarrear un mayor esfuerzo diagnóstico para identificar tratamientos eficaces⁷¹, lo que se reflejó en un mayor coste de las pruebas no-genéticas (2.360,55 € por paciente) sin una gran diferencia de la cuantía de los estudios genéticos (1.060 € por paciente).

La escasa disponibilidad en nuestro medio de análisis genéticos específicos de epilepsia se pone de manifiesto por el hecho de que la mayoría de los pacientes incluidos se estudiaron

dentro de proyectos de investigación y sólo un pequeño porcentaje (17,4%) dentro de un estudio clínico. Esto puede que haya influido de forma notable en la realización de otras pruebas complementarias convencionales antes que pruebas genéticas, las cuales el médico responsable del paciente hubiera querido realizar en primer lugar. En pacientes en los que se identificó un gen causal, a pesar de que el médico consideró realizar antes el estudio genético, se realizaron previamente otras pruebas: hasta en 11 pacientes se hizo una RM convencional (precio medio por paciente de 333€), en 24 pacientes se realizaron técnicas de neuroimagen no convencional (precio medio por paciente de 308,65€), en 28 pacientes se llevaron a cabo estudios metabólicos ampliados (precio medio por paciente de 1.358€) y en 9 pacientes se estudiaron enfermedades mitocondriales-depósito (precio medio por paciente de 2.375,12€).

En nuestro conocimiento, hasta ahora ningún estudio ha analizado los costes indirectos de los estudios genéticos, incluyendo un aspecto fundamental como es el coste en tiempo (*lead time*). Los casos de pacientes publicados en este sentido refieren que haber realizado el análisis genético tras el debut de la epilepsia hubiera ahorrado entre 1,4-8,2 años a los pacientes^{178,203}. En nuestro estudio encontramos cifras similares: el tiempo medio transcurrido desde el inicio de la epilepsia hasta el inicio del estudio genético fue de 7,82 años, y el tiempo medio empleado en las técnicas genéticas hasta la obtención del resultado fue de 1,26 años, con lo que en caso de haber realizado el análisis genético en primer lugar se habría alcanzado el diagnóstico más de seis años antes. Este hecho es de especial relevancia, ya que el grado de utilidad percibida del estudio genético es mayor cuanto menor es el tiempo hasta obtener los resultados del estudio.

8.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES CON EPILEPSIA GENÉTICA

La muestra de nuestro estudio tiene un sesgo de selección ya que la mayoría de los análisis genéticos, que se realizaron en el Laboratorio de Genética de las Epilepsias de nuestro centro, fueron reclutados desde las diferentes líneas de investigación que se han ido

desarrollando en los últimos nueve años, especialmente de estudios en EEs. Eso explica la gravedad de las epilepsias analizadas, de manera que el 82,3% de los pacientes asociaban algún trastorno de aprendizaje, el 66,3% eran fármaco-resistentes y el síndrome epiléptico más frecuente fue la EE (51,4% de los casos). Normalmente, estos porcentajes son mucho menores en la población global con epilepsia, de manera que los trastornos de aprendizaje se presentan en el 32%, son fármaco-resistentes en el 30% y las EEs representan el 0,15% de las epilepsias⁷⁰⁻⁷¹.

Cabe destacar que se identificaron asociaciones significativas entre la presencia de alteraciones genéticas y determinadas características clínicas. De esta forma, el inicio de la epilepsia fue más precoz entre los pacientes con defectos genéticos. Esta relación ha sido documentada de manera repetida en la literatura de forma que la rentabilidad diagnóstica del uso de las técnicas genéticas es mayor cuanto antes debute la epilepsia, pudiendo identificarse una causa genética hasta en el 40-66% cuando las crisis debutan en periodo neonatal^{89-90,105}. También se ha demostrado que los pacientes con epilepsia en los que se identificó una causa genética mostraban una exploración neurológica alterada y asociaban otras enfermedades médicas no neurológicas. Esta asociación enfatiza que a pesar de los grandes avances en la tecnología médica, una adecuada anamnesis y exploración física siguen siendo la base fundamental en el abordaje médico del paciente, entre otros aspectos para identificar las frecuentes comorbilidades que suelen presentar los pacientes con epilepsia.

En los próximos años se espera que se produzcan notables avances genéticos tales como el desarrollo de bases de datos poblacionales, mejora de estudios funcionales, mayor conocimiento de las epilepsias poligénicas así como de las alteraciones epigenéticas. Todo ello probablemente redundará en una identificación de nuevas dianas terapéuticas y el consiguiente desarrollo de tratamientos individualizados (medicina de precisión) que mejorará la calidad de vida de los pacientes con epilepsia y sus familiares^{134-135,185,187}. En 2013, autores como Hildebrand et al¹⁶ referían que *“los notables avances en el estudio*

genético de las epilepsias monogénicas todavía no se han visto reflejados en la clínica".

Actualmente, en nuestro estudio casi la mitad de los médicos consultados consideraban que identificar una causa genética también repercute, directamente y en el momento actual, en una optimización del manejo médico del paciente. De hecho, sólo una minoría (17,2%) consideró que la identificación de un gen causal no tiene ninguna utilidad.

Este es el primer estudio en el que se detalla que los estudios genéticos son herramientas rentables y útiles en numerosos aspectos clínicos tales como evitar pruebas complementarias innecesarias, mejorar el conocimiento, el diagnóstico, el tratamiento y el consejo genético. Además también se demuestra que en algunos casos, contribuyen a mejorar la calidad de vida percibida por los familiares de pacientes con epilepsia.

9. LIMITACIONES

9. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El estudio realizado en esta memoria presenta varias limitaciones. La primera es que es un estudio de corte transversal con lo que no se pueden inferir relaciones de causalidad.

La segunda es que los pacientes incluidos presentan epilepsias generalmente graves, no siendo representativos de las epilepsias más frecuentes sino que responden fundamentalmente a los estudios realizados en el Laboratorio de Genética de Epilepsias de nuestro centro. Asimismo, muchos de los estudios genéticos realizados fueron mediante análisis secuencial de genes, mientras que en la actualidad el uso de técnicas NGS son las más extendidas.

La tercera es que los datos de los pacientes no se recogieron mediante una encuesta uniforme (para simplificar la labor de los médicos colaboradores) sino que se obtuvieron mediante revisión de historias clínicas. Por ello, muchas características que frecuentemente asocian los pacientes con epilepsia no se analizaron debido a que no aparecían reflejados en todos los informes médicos. De esta forma, puede que se haya infradiagnosticado la presencia de antecedentes familiares, de trastornos de aprendizaje menores (TDAH) y psiquiátricos (trastorno de conducta, depresión o ansiedad). Asimismo, en un porcentaje relevante de pacientes adultos no se conservaban los primeros informes médicos ni recordaban aspectos como las pruebas complementarias efectuadas ni los tratamientos farmacológicos recibidos.

La cuarta es el pequeño tamaño muestral de las encuestas respondidas por los familiares lo que dificulta el encontrar asociaciones estadísticamente significativas. Además, puede constituir un sesgo de selección ya que aquellos familiares que contestaron puede que fueran los que estuvieran más interesados en los estudios genéticos.

Finalmente, las características del estudio impidieron poder tener en cuenta los costes indirectos ni la realización de un análisis de coste-efectividad.

10. CONCLUSIONES

10. CONCLUSIONES

1. El estudio genético en pacientes con epilepsia, especialmente en aquellos casos en que se encuentra una alteración genética, resulta de **utilidad** en mejorar el **conocimiento** de la enfermedad, cambiar o confirmar **diagnósticos** previos, **evitar** otros **estudios** etiológicos y modificar **tratamientos**. El ahorro de pruebas complementarias fue mayor entre los pacientes de menor edad y en los que menos tiempo transcurrió hasta obtener el resultado genético. En cambio, en los adultos, fue el grupo donde más se modificaron diagnósticos y tratamientos previos.
2. Determinar la causa genética de la epilepsia permitió, en muchos casos, identificar a otros familiares afectados y en la mayoría de las ocasiones proporcionar un adecuado **consejo genético**, especialmente entre aquellos pacientes más jóvenes y en los que se obtuvo un diagnóstico más precoz.
3. El abordaje genético fue considerado por los **familiares** y los pacientes como una **herramienta útil** para el manejo de la epilepsia, tanto en el momento presente como en un futuro. Los sentimientos de ansiedad y depresión, frecuentes entre los familiares tras confirmar la causa genética, disminuyen progresivamente cuanto más tiempo haya transcurrido desde el diagnóstico.
4. Identificar la causa genética de las epilepsias se tradujo en una mejoría de la **calidad de vida** de un porcentaje considerable de familiares y pacientes.
5. El análisis genético es una herramienta diagnóstica **rentable** tanto en costes directos como indirectos (*lead time*).

11. BIBLIOGRAFÍA

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005;46:470–472.
2. Beretta S, Carone D, Zanchi C, Bianchi E, Pirovano M, Trentini C et al. Long-term applicability of the new ILAE definition of epilepsy. Results from the PRO-LONG study. *Epilepsia*. 2017;58:1517-1523.
3. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger C et al. A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55:475–482.
4. Fiest K, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J et al. Prevalence and incidence of epilepsy. A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology* 2017;88:296-303.
5. Camfield P, Camfield C. Incidence, prevalence and etiology of seizures and epilepsy in children. *Epileptic Disord*. 2015;17:117-123.
6. Durá-Travé T, Yoldi-Petri ME, Gallinas-Victoriano F. Incidence of epilepsy in 0-15 year-olds. *An Pediatr (Barc)*. 2007;67:37-43.
7. Onsurbe Ramírez I, Hernández Rodríguez M, Aparicio Meix JM, Carrascosa Romero C. Incidence of epilepsy and epileptic syndromes in children in the province of Albacete. *An Esp Pediatr*. 1999;51:154-8.
8. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010;51:676-85.
9. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58:512-521.
10. Fisher RH, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE et al. Operational

- classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58:522–530.
11. Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*. 1989;30:389-99.
 12. Casas-Fernández C. Análisis crítico de la nueva clasificación de las epilepsias y crisis epilépticas de la Liga Internacional contra la Epilepsia. *Rev Neurol* 2012;54:S7-18
 13. Marguet F, Barakizou H, Tebani A, Abily-Donval L, Torre S, Bayoudh F et al. Pyridoxine-dependent epilepsy: report on three families with neuropathology. *Metab Brain Dis*. 2016;31:1435-1443.
 14. Parrini E, Conti V, Dobyns WB, Guerrini R. Genetic basis of brain malformations. *Mol Syndromol*. 2016;7:220–233.
 15. López-Marin L. Metabolic approach in epileptic encephalopathies in infants. *Rev Neurol*. 2017;17:S49-S53.
 16. Hildebrand MS, Dahl HH, Damiano JA, Smith RJ, Scheffer I, Berkovic SF. Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *J Med Genet* 2013;50:271-279.
 17. Fisher RS. Redefining epilepsy. *Curr Opin Neurol*. 2015;28:130-135.
 18. García-Ramos R, García- Pastor A, Masjuan J, Sánchez C, Gil A. FEEN: Informe sociosanitario FEEN sobre la epilepsia en España. *Neurología*. 2011;26:548-555.
 19. Sundelin HE, Larsson H, Lichtenstein P, Almqvist C, Hultman CM, Tomson T et al. Autism and epilepsy: A population-based nationwide cohort study. *Neurology*. 2016;87:192-7.
 20. Vieco A, Gracia-Ron A. Impacto en la calidad de vida según la situación ejecutiva en niños con epilepsia generalizada idiopática. En: XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría, 19-21 Mayo, Toledo, España.
 21. Pérez-Villena A, López-Marín L, García-Peñas JJ, Calleja-Gero ML, Castaño-De la Mota C, Losada-Del Pozo R et al. Benign childhood epilepsies: academic difficulties and behavioural disorders. *Rev Neurol*. 2012;54:17-23.

22. Rodenburg R, Stams GJ, Meijer AM, Aldenkamp AP, Deković M. Psychopathology in children with epilepsy: a meta-analysis. *J Pediatr Psychol*. 2005;30:453-68.
23. Baker GA, Hargis E, Hsieh MM, Mounfield H, Arzimanoglou A, Glauser T et al. Perceived impact of epilepsy in teenagers and young adults: an international survey. *Epilepsy Behav*. 2008;12:395-401.
24. Pal D, Ferrie C, Addis L, Akiyama T, Capovilla G, Caraballo R et al. Idiopathic focal epilepsies: the "lost tribe". *Epileptic Disord* 2016;18:252-288.
25. Jones C, Reilly C. Parental anxiety in childhood epilepsy: A systematic review. *Epilepsia*. 2016;57:529-37.
26. Soto-Insuga V, Rodríguez C, Losada R, Prados M, Pérez A, Castaño C et al. Un problema oculto que pasa desapercibido: trastornos de sueño en los padres de los niños con epilepsia. En: XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría, 19-21 Mayo, Toledo, España.
27. Allers K, Essue BM, Hackett M, Munhunthan J, Anderson CS, Pickles K et al. The economic impact of epilepsy: a systematic review. *BMC Neurology*. 2015;15:245.
28. Santillán-Garzón S, Dan D, Buades C, Romera-López A, Pérez-Cabornero L, Valero-Hervás D, Cantalapiedra D et al. Molecular diagnosis of genetic diseases: from genetic to genomic diagnosis using next generation sequencing. *Revista médica Las Condes*. 2015; 26:458-469.
29. Myers CT, Mefford HC. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Med*. 2015;7:91.
30. Depienne C, Gourfinkel-An I, Baulac S, LeGuern E. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Genes in infantile epileptic encephalopathies. Delgado-Escueta AV, editors. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012.
31. Helbig H, Heinzen EL, Heather C. Primer Part 1—The building blocks of epilepsy genetics. *Epilepsia*. 2016;57:861–868.
32. Vaags AK, Bowdin S, Smith ML, Gilbert-Dussardier B, Brocke-Holmefjord KS, Sinopoli K et al.

- Absent CNKSR2 causes seizures and intellectual, attention, and language deficits. *Ann Neurol*. 2014;76:758-64.
33. Shirley MD, Tang H, Gallione CJ, Baugher JD, Frelin LP, Cohen B et al. Sturge-Weber Syndrome and Port-Wine Stains caused by somatic mutation in GNAQ. *N Engl J Med*. 2013;368:1971-9.
34. Hirose S, Scheffer IE, Marini C, De Jonghe P, Andermann E, Goldman AM, et al. SCN1A testing for epilepsy: application in clinical practice. *Epilepsia*. 2013;54:946-52.
35. Manning M, Hudgins L; Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med*. 2010;12:742-5.
36. Hardies K, Weckhuysen S, De Jonghe P, Suls A. Lessons learned from gene identification studies in Mendelian epilepsy disorders. *Eur J Hum Genet*. 2016;24:961-7.
37. Rosenfeld JA, Patel A. Chromosomal Microarrays: Understanding genetics of neurodevelopmental disorders and congenital anomalies. *J Pediatr Genet*. 2017;6:42-50.
38. Kurian MA. The clinical utility of chromosomal microarray in childhood neurological disorders. *Dev Med Child Neurol*. 2012;54:582-3.
39. Scheffer IE, Mefford HC. Epilepsy: Beyond the single nucleotide variant in epilepsy genetics. *Nat Rev Neurol*. 2014;10:490-491.
40. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977;74:5463-5467.
41. Beck T, Mullikin JC, Bilschke LG. Systematic evaluation of Sanger validation of NextGen sequencing variants. *Clin Chem*. 2016;62:647-654.
42. Stosser MB, Lindy AS, Butler E, Retterer K, Picirillo-Stosser C, Richard G. High frequency of mosaic pathogenic variants in genes causing epilepsy-related neurodevelopmental disorders. *Genet Med*. 2018;20:403-410.
43. Lemke JR, Riesch E, Scheurenbrand T, Schubach M, Wilhelm C, Steiner I et al. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*. 2012;21:1387-1398.

44. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J. Standards and guidelines for the Interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405-424.
45. Cunliffe VT. Building a zebrafish toolkit for investigating the pathobiology of epilepsy and identifying new treatments for epileptic seizures. *J Neurosci Methods*. 2016;260:91-5.
46. Ortega Moreno L. Estudio genético de las epilepsias de inicio en los primeros dos años: desarrollo de un algoritmo diagnóstico. "Tesis doctoral". Madrid: Universidad Autónoma de Madrid;2017.117p.
47. Figueroa-Duarte AS, Campbell OA. La visión de la epilepsia a través de la historia. *Bol Clin Hosp Eso Son*. 2015;32:87-101
48. Vadlamudi L, Andermann E, Lombroso CT, Schachter SC, Milne RL, Hopper JL et al. Epilepsy in twins: insights from unique historical data of William Lennox. *Neurology*. 2004;62:1127-33.
49. Watson JD, Crick FH. The structure of DNA. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1953;18:123-31
50. Steinlein OK, Mulley JC, Propping P, Wallace RH, Phillips HA, Sutherland GR et al. A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet*. 1995;11:201-3.
51. Charlier C, Singh NA, Ryan SG, Lewis TB, Reus BE, Leach RJ et al. A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family. *Nat Genet* 1998; 18:53-5.
52. Pennacchio LA, Lehesjoki A-E, Stone NE, Willour VL, Virtanera K, Miao J. Mutations in the gene encoding cystatin B in progressive myoclonus epilepsy (EPM1). *Science* 1996; 271:1731-4.
53. Genton P, Striano P, Minassian BA. The history of progressive myoclonus epilepsies. *Epileptic Disord*. 2016;18:3-10.

54. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291:1304-51
55. Poduri A, Lowenstein, D. Epilepsy Genetics—Past, Present, and Future. *Curr Opin Genet Dev*. 2011;21:325–332.
56. Rees MI. The genetics of epilepsy—the past, the present and future. *Seizure*. 2010;19:680-683.
57. Garcia-Peñas JJ, Jimenez-Legido M. Infantile epileptic encephalopathies: what matters is genetics. *Rev Neurol*. 2017.17;64:S65-S69.
58. Mastrangelo M. Novel Genes of Early-Onset Epileptic Encephalopathies: From Genotype to Phenotypes. *Pediatr Neurol*. 2015;53:119-29.
59. Steel D, Symonds JD, Zuberi SM, Brunklaus A. Dravet syndrome and its mimics: Beyond SCN1A. *Epilepsia* 2017;58:1807-1816.
60. Lim CX, Ricos MG, Dibbens LM, Heron SE. KCNT1 mutations in seizure disorders: the phenotypic spectrum and functional effects. *J Med Genet*. 2016;53:217-25.
61. Connolly MB. Dravet Syndrome: Diagnosis and Long-Term Course. *Can J Neurol Sci*. 2016;43:S3-8.
62. Wilmshurst JM, Ibekwe RC, O'Callaghan FJ. Epileptic spasms - 175 years on: Trying to teach an old dog new tricks. *Seizure*. 2017;44:81-86.
63. Michelucci R, Pulitano P, Di Bonaventura C, Binelli S, Luisi C et al The clinical phenotype of autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy related to reelin mutations. *Epilepsy Behav*. 2017;68:103–107.
64. Dixit A, Suri M. When the face says it all: dysmorphology in identifying syndromic causes of epilepsy. *Pract Neurol*. 2016;16:111-121.
65. Coorg R, Weisenberg JL, Wong M. Clinical neurogenetics: recent advances in the genetics of epilepsy. *Neurol Clin*. 2013;31:891-913.
66. Helbig I, Scheffer I, Mulley JC, Berkovic SF. Navigating the channels and beyond: unravelling the genetics of the epilepsies. *Lancet Neurol*. 2008;7:231–245.
67. Peljto AL, Barker-Cummings C, Vasoli VM, et al. Familial risk of epilepsy: a population-

- based study. *Brain*. 2014;137:795–805.
68. Thomas RH, Berkovic SF. The hidden genetics of epilepsy. A clinical important new paradigm. *Nat Rev Neurol*. 2014;10:283-292.
 69. Berg AT, Coryell J, Saneto RP, Grinspan ZM, Alexander JJ, Kekis M et al. Early-life epilepsies and the emerging role of genetic testing. *JAMA Pediatr*. 2017;171:863-871.
 70. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010;51:1069-77.
 71. Howell KB, Harvey SH, Archer JS. Epileptic encephalopathy: Use and misuse of a clinically and conceptually important concept. *Epilepsia*. 2016;57:343–347.
 72. Lemke JR, Syrbe S. Epileptic encephalopathies in childhood: The role of genetic testing. *Semin Neurol*. 2015;35:310-22.
 73. Zhou P, He N, Zhang JW, Lin ZJ, Wang J, Yan LM et al. Novel mutations and phenotypes of epilepsy-associated genes in epileptic encephalopathies. *Genes Brain Behav*. 2018 [Epub ahead of print].
 74. Mefford HC, Muhle H, Ostertag P, von Spiczak S, Buysse K, Baker C et al. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genetics*. 2010;20:6.
 75. Olson HE, Kelly M, LaCoursiere CM, Pinsky R, Tambunan D, Shain C et al. Genetics and genotype-phenotype correlations in early onset epileptic encephalopathy with burst suppression. *Ann Neurol*. 2017;81:419-429.
 76. Allen NM, Conroy J, Shahwan A, Ennis S, Lynch B, Lynch SA et al. Chromosomal microarray in unexplained severe early onset epilepsy - A single centre cohort. *Eur J Paediatr Neurol*. 2015;19:390-4.
 77. Wincent J, Kolbjørn S, Martin D, Luthman A, Åmark P, Dahlin M et al. Copy number variations in children with brain malformations and refractory epilepsy. *Am J Med Genet A*. 2015;167:512-23.

78. Wang R, Lei T, Fu F, Li R, Jing X, Yang X et al. [Application of chromosome microarray analysis in 489 children with developmental delay/intellectual disability]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2017;34:528-533.
79. Epilepsy Phenome/Genome Project & Epi4K Consortium. Copy Number Variant Analysis from Exome Data in 349 Patients with Epileptic Encephalopathy. *Ann Neurol* 2015;78:323-328
80. Fry AE, Rees E, Thompson R, Mantripragada K, Blake P, Jones G et al. Pathogenic copy number variants and SCN1A mutations in patients with intellectual disability and childhood-onset epilepsy. *BMC Med Genet*. 2016;17:34.
81. Hino-Fukuyo N, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Niihori T, Sato R, Suzuki T et al. Genomic analysis identifies candidate pathogenic variants in 9 of 18 patients with unexplained West syndrome. *Hum Genet*. 2015;134:649-58.
82. Mefford HC, Yendle SC, Hsu C, Cook J, Geraghty E, McMahon JM et al. Rare copy number variants are an important cause of epileptic encephalopathies. *Ann Neurol*. 2011; 70: 974–985.
83. Mefford HC, Muhle H, Ostertag P, von Spiczak S, Buysse K, Baker C et al. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genet*. 2010; 6:e1000962.
84. Ma Y, Chen C, Wang Y, Wu L, He F, Chen C et al. Analysis copy number variation of Chinese children in early-onset epileptic encephalopathies with unknown cause. *Clin Genet* 2016;90:428-436.
85. Saitsu H, Kato M, Mizuguchi T, Hamada K, Osaka H, Tohyama J et al. De novo mutations in the gene encoding STXBP1 (MUNC18-1) cause early infantile epileptic encephalopathy. *Nat Genet* 2008;40:782–788.
86. Della E, Ciccone R, Brustia F, Bayindir B, Limongelli I, Vetro A et al. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *European Journal of Human Genetics*. 2015;23:354–362.

87. Barcia G, Fleming MR, Deligniere A, Gazula VR, Brown MR, Langouet M et al. De novo gain-of-function KCNT1 channel mutations cause malignant migrating partial seizures of infancy. *Nat Genet.* 2012;44:1255–9.
88. Mercimek-Mahmutoglu S, Patel J, Cordeiro D, Hewson S, Callen D, Donner EJ et al. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia.* 2015;56:707–716.
89. Trump N, McTague A, Brittain H, Papandreou A, Meyer E, Ngoh A. Improving diagnosis and broadening the phenotypes in early-onset seizure and severe developmental delay disorders through gene panel analysis. *J Med Genet* 2016;53:310–317.
90. Moller R, Larsen LH, Johannesen KM, Talvik I, Talvik T, Vaher U et al. Gene panel testing in epileptic encephalopathies and familial epilepsies. *Mol Syndromol* 2016;7:210–219.
91. Kobayashi Y, Tohyama J, Kato M, Akasaka N, Magara S, Kawashima H et al. High prevalence of genetic alterations in early-onset epileptic encephalopathies associated with infantile movement disorders. *Brain Dev.* 2016;38:285-92.
92. Parrini E, Marini C, Mei D, Galuppi A, Cellini E, Pucatti D et al. Diagnostic Targeted Resequencing in 349 Patients with Drug-Resistant Pediatric Epilepsies Identifies Causative Mutations in 30 Different Genes. *Hum Mutat.* 2017;38:216-225.
93. Koder H, Kato M, Nord AS, Walsh T, Lee M, Yamanaka G et al. Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia.* 2013;54:1262-9.
94. de Kovel CG, Brilstra EH, van Kempen MJ, Vant Slot R, Nijman IJ, Afawi Z et al. Targeted sequencing of 351 candidate genes for epileptic encephalopathy in a large cohort of patients *Mol Genet Genomic Med.* 2016;4:568-80.
95. Gokben S, Onay H, Yilmaz S, Atik T, Serdaroglu G, Tekin H et al. Targeted next generation sequencing: the diagnostic value in early-onset epileptic encephalopathy. *Acta Neurol Belg.* 2017;117:131-138.

96. Segal E, Pedro H, Valdez-Gonzalez K, Parisotto S, Gliksman F, Thompson S et al. Diagnostic yield of epilepsy panels in children with medication-refractory epilepsy. *Pediatr Neurol*. 2016;64:66-71.
97. Ortega-Moreno L, Giráldez BG, Soto-Insuga V, Losada-Del Pozo R, Rodrigo-Moreno M, Alarcón-Morcillo C et al. Molecular diagnosis of patients with epilepsy and developmental delay using a customized panel of epilepsy genes. *PLoS One*. 2017;12
98. Allen NM, Conroy J, Shahwan A, Lynch B, Correa RG, Pena SD et al. Unexplained early onset epileptic encephalopathy: Exome screening and phenotype expansion. *Epilepsia*. 2016;57:12-7.
99. Wang Y, Du X, Bin R, Yu S, Xia Z, Zheng G et al. Genetic variants identified from epilepsy of unknown etiology in chinese children by targeted exome sequencing. *Sci Rep*. 2017;7:46520.
100. Wang J, Gotway G, Pascual JM, Park JY. Diagnostic yield of clinical next-generation sequencing panels for epilepsy. *JAMA Neurol*. 2014;71:650-651.
101. Della Mina E, Ciccone R, Brustia F, Bayindir B, Limongelli I, Vetro A et al. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *Eur J Hum Genet*. 2015;23:354-62.
102. Carvill GL, Regan BM, Yendle SC, O'Roak BJ, Lozovaya N, Bruneau N et al. GRIN2A mutations cause epilepsy-aphasia spectrum disorders. *Nat Genet*. 2013;45:1073-6.
103. Helbig KL, Farwell Hagman KD, Shinde DN, Mroske C, Powis Z, Li S et al. Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genet Med*. 2016;18:898-905.
104. Hamdan FF, Myers CT, Cossette P, Lemay P, Spiegelman D. High Rate of Recurrent De Novo Mutations in Developmental and Epileptic Encephalopathies. *Am J Hum Genet*. 2017;101:664-685.
105. Rim JH, Kim SH, Hwang IS, Kwon SS, Kim J, Kim HW et al. Efficient strategy for the molecular diagnosis of intractable early-onset epilepsy using targeted gene sequencing. *BMC Med Genomics*. 2018;11:6.

106. Dimassi S, Labalme A, Ville D, Calender A, Mignot C, Boutry-Kryza N et al. Whole-exome sequencing improves the diagnosis yield in sporadic infantile spasm syndrome. *Clin Genet*. 2016;89:198-204.
107. Epi4K Consortium, Epilepsy Phenome/Genome Project, Allen AS, Berkovic SF, Cossette P, Delany N et al. De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature* 2013;501:217–221.
108. Veeramah KR, Johnstone L, Karafet TM, Wolf D, Sprissler R, Salogiannis J et al. Exome sequencing reveals new causal mutations in children with epileptic encephalopathies. *Epilepsia*. 2013;54:1270-81.
109. Helbig I, Lowenstein DH. Genetics of the epilepsies: where are we and where are we going? *Curr Opin Neurol*. 2013;26:179–185.
110. Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol*. 1998;43:435-45.
111. Helbig I. Genetic Causes of Generalized Epilepsies. *Semin Neurol* 2015;35:288–292.
112. Arsov T, Mullen SA, Rogers S, Phillips AM, Lawrence KM, Damiano JA et al. Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies. *Ann Neurol*. 2012;72:807-15.
113. Lebon S, Suarez P, Alija S, Korff CM, Fluss J, Mercati D et al. When should clinicians search for GLUT1 deficiency syndrome in childhood generalized epilepsies?. *Eur J Paediatr Neurol*. 2015;19:170-5.
114. Soto-Insuga V, Losada-Del Pozo R, Giráldez BGG, Alarcón-Morcillo C, Rodrigo-Moreno M, Ortega-Moreno L et al. Glut1 deficiency is a rare but treatable cause of childhood absence epilepsy with atypical features. *Pendiente de publicación*.
115. Heinzen EL, Depondt C, Cavalleri GL, Ruzzo EK, Walley NM, Need AC et al. Exome sequencing followed by large-scale genotyping fails to identify single rare variants of large effect in idiopathic generalized epilepsy. *Am J Hum Genet*. 2012;91:293-302.
116. Dibbens LM, Mullen S, Helbig I, Mefford HC, Bayly MA, Bellows S, EPICURE Consortium. Familial and sporadic 15q13.3 microdeletions in idiopathic generalized epilepsy:

- precedent for disorders with complex inheritance. *Hum Mol Genet* 2009;18:3626–3631.
117. EPICURE Consortium; EMINet Consortium, Steffens M, Leu C, Ruppert AK, Zara F et al. Genome-wide association analysis of genetic generalized epilepsies implicates susceptibility loci at 1q43, 2p16.1, 2q22.3 and 17q21.32. *Hum Mol Genet*. 2012;21:5359-72.
 118. Boillot M, Baulac S. Genetic models of focal epilepsies. *J Neurosci Methods*. 2016;260:132-143.
 119. Tsai MH, Chan CK, Chang YC, Yu YT, Chuang ST, Fan WL et al. DEPDC5 mutations in familial and sporadic focal epilepsy. *Clin Genet*. 2017;92:397-404.
 120. Heinzen EL, Radtke RA, Urban TJ, Cavalleri GL, Depondt C, Need AC et al. Rare deletions at 16p13.11 predispose to a diverse spectrum of sporadic epilepsy syndromes. *Am J Hum Genet*. 2010;86:707-18.
 121. Perucca P, Scheffer IE, Harvey AS, James PA, Lunke S, Thorne N et al. Real-world utility of whole exome sequencing with targeted gene analysis for focal epilepsy. *Epilepsy Res*. 2017;131:1-8.
 122. Poza JJ. The genetics of focal epilepsies. *Handb Clin Neurol*. 2012;107:153-61.
 123. Lemke JR, Lal D, Reinthaler EM, Steiner I, Nothnagel M, Alber M et al. Mutations in GRIN2A cause idiopathic focal epilepsy with rolandic spikes. *Nat Genet*. 2013;45:1067-1072.
 124. Lesca G, Rudolf G, Bruneau N, Lozovaya N, Labalme A, Boutry-Kryza N et al. GRIN2A mutations in acquired epileptic aphasia and related childhood focal epilepsies and encephalopathies with speech and language dysfunction. *Nat Genet*. 2013;45:1061-6.
 125. Afawi Z, Oliver KL, Kivity S, Mazarib A, Blatt I, Neufeld MY et al. Multiplex families with epilepsy: Success of clinical and molecular genetic characterization. *Neurology*. 2016;86:713-22.
 126. Zara F, Specchio N, Striano P, Robbiano A, Gennaro E, Paravidino R et al. Genetic testing in benign familial epilepsies of the first year of life: Clinical and diagnostic significance. *Epilepsia*. 2013;54:425–436.

127. Grinton BE, Heron SE, Pelekanos JT, Zuberi SM, Kivity S, Afawi Z et al. Familial neonatal seizures in 36 families: Clinical and genetic features correlate with outcome. *Epilepsia*. 2015;56:1071-80.
128. Gardella E, Becker F, Møller RS, Schubert J, Lemke JR, Larsen LH et al. Benign infantile seizures and paroxysmal dyskinesia caused by an SCN8A mutation. *Ann Neurol*. 2016;79:428-36.
129. Tinuper P, Bisulli F, Cross JH, Hesdorffer D, Kahane P, Nobili L et al. Definition and diagnostic criteria of sleep-related hypermotor epilepsy. *Neurology*. 2016;86:1834-42.
130. Picard F, Makrythanasis P, Navarro V, Ishida S, de Bellescize J, Ville D et al. DEPDC5 mutations in families presenting as autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology*. 2014;82:2101-6.
131. Ishida S, Picard F, Rudolf G, Noé E, Achaz G, Thomas P et al. Mutations of DEPDC5 cause autosomal dominant focal epilepsies. *Nat Genet*. 2013;45:552-5.
132. Striano P, Serioli E, Santulli L, Manna I, Labate A, Dazzo E et al. DEPDC5 mutations are not a frequent cause of familial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2015;56:168–171.
133. Dibbens LM, de Vries B, Donatello S, Heron SE, Hodgson BL, Chintawar S et al. Mutations in DEPDC5 cause familial focal epilepsy with variable foci. *Nat Genet*. 2013;45:546-551.
134. Pulido L, Quesada P, Mendioroz M. Epigenética y epilepsia. *Neurología*. 2015;30:111-118.
135. Koeleman BP. What do genetic studies tell us about the heritable basis of common epilepsy? Polygenic or complex epilepsy? *Neurosci Lett*. 2017;667:10-16.
136. Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL et al. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and genomic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol*. 2015;33:3660-7.
137. Bunnell AE, Garby CA, Pearson EJ, Walker SA, Panos LE, Blum JL. The clinical utility of next generation sequencing results in a community-based hereditary cancer risk program. *J Genet Couns*. 2017;26:105-112.

138. Care M, Chauhan V, Spears D. Genetic testing in inherited heart diseases: Practical considerations for clinicians. *Curr Cardiol Rep*. 2017;19:88.
139. Hayeems RZ, Hoang N, Chenier S, Stavropoulos DJ, Pu S, Weksberg R et al. Capturing the clinical utility of genomic testing: medical recommendations following pediatric microarray. *Eur J Hum Genet*. 2015;23:1135-1141.
140. Coulter ME, Miller DT, Harris DJ, Hawley P, Picker J, Roberts AE et al. Chromosomal microarray testing influences medical management. *Genet Med*. 2011;13:770-776.
141. Ellison JW, Ravnan JB, Rosenfeld JA, Morton SA, Neill NJ, Williams MS et al. Clinical utility of chromosomal microarray analysis. *Pediatrics*. 2012;130:1085-1095.
142. Pascual-Pascual SI, García-Romero M. Posibilidades de tratamiento en la atrofia espinal. *Rev Neurol* 2017;64(Supl3):S19-24.
143. Serratosa JM. Genética molecular de las epilepsias: implicaciones presentes y futuras en la práctica clínica. *Rev Neurol*. 1999;28:56-60.
144. Delgado-Escueta AV, Bourgeois B. Does genetic information in humans help us treat patients? PRO—genetic information in humans helps us treat patients. CON—genetic information does not help at all. *Epilepsia*. 2008;49:13–24.
145. Brunklaus A, Dorris L, Ellis R, Reavey E, Lee E, Forbes G et al. The clinical utility of an SCN1A genetic diagnosis in infantile-onset epilepsy. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55:154-161.
146. Vears DF, Dunn KL, Wake SA, Scheffer IE. *Epilepsy Res*. "It's good to know": experiences of gene identification and result disclosure in familial epilepsies. 2015;112:64-71.
147. Ottman R, Hirose S, Jain S, Lerche H, Lopes-Cendes I, Noebels JL, Serratosa. Genetic testing in the epilepsies--report of the ILAE Genetics Commission. J et al. *Epilepsia*. 2010;51:655-70.
148. Engel J. A Proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsy syndrome: A complex of signs and symptoms that define a unique epilepsy condition*. *Epilepsia* 2001;42:796-803.

149. American Psychiatric Association, Kupfer DJ, Regier DA, Arango López C, Ayuso-Mateos JL, Vieta Pascual E & Bagney Lifante, A. (2014). *DSM-5: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales* (5a ed.). Madrid [etc.]: Editorial Médica Panamericana.
150. Ebrahimi-Fakhari D, Saffari A, Westenberger A, Klein C. The evolving spectrum of PRRT2-associated paroxysmal diseases. *Brain*. 2015;138:3476-95.
151. Miceli F, Soldovieri MV, Joshi N, Weckhuysen S, Cooper E, Tagliatela M. KCNQ2 Related Disorders. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018. □2010 Apr 27 [updated 2016 Mar 31].
152. Myers KA, Scheffer IE. *GRIN2A*-Related Speech Disorders and Epilepsy. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Ledbetter N, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K, editors. Source: GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. 2016 Sep 29.
153. Trivisano M, Pietrafusa N, Ciommo Vd, Cappelletti S, Palma Ld, Terracciano A et al. PCDH19-related epilepsy and Dravet Syndrome: Face-off between two early-onset epilepsies with fever sensitivity. *Epilepsy Res*. 2016;125:32-6.
154. Kamate M, Detroja M. CDKL5 Encephalopathy: A Rare Cause of Infantile Epileptic Encephalopathy. *Indian Pediatr* 2015;52:537.
155. Syrbe S, Hedrich UBS, Riesch E, Djémié T, Müller S, Møller RS et al. De novo loss- or gain-of-function mutations in *KCNA2* cause epileptic encephalopathy. *Nat Genet*. 2015;47:393-399.
156. Masnada S, Hedrich UBS, Gardella E, Schubert J, Kaiwar C, Klee EW et al. Clinical spectrum and genotype-phenotype associations of *KCNA2*-related encephalopathies. *Brain*. 2017;140:2337-2354.
157. Olivetti PR, Noebels JL. Interneuron, interrupted: molecular pathogenesis of ARX mutations and X-linked infantile spasms. *Curr Opin Neurobiol*. 2012;22:859-65.
158. Lemke JR, Geider K, Helbig KL, Heyne HO, Schütz H, Hentschel J et al. Delineating the

- GRIN1 phenotypic spectrum: A distinct genetic NMDA receptor encephalopathy. *Neurology*. 2016;86:2171-8.
159. STXBP1 Encephalopathy with Epilepsy. Khaikin Y, Mercimek-Mahmutoglu S. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mefford HC et al. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. 2016 Dec 1.
 160. Mignot C, von Stulpnagel C, Nava C, Ville D, Sanlaville D, Lesca G. Genetic and neurodevelopmental spectrum of SYNGAP1-associated intellectual disability and epilepsy. *J Med Genet*. 2016;53:511-522.
 161. Tan WH, Bird LM, Thibert RL, Williams CA. If not Angelman, what is it? A review of Angelman-like syndromes. *Am J Med Genet A*. 2014;164:975-92.
 162. Krajnc N. Management of epilepsy in patients with Rett syndrome: perspectives and considerations. *Ther Clin Risk Manag*. 2015;11:925-32.
 163. Bird LM. Angelman syndrome: review of clinical and molecular aspects. *Appl Clin Genet*. 2014;7:93-104.
 164. Hamici S, Bastaki F, Khalifa M. Exome sequence identified a c.320A > G ALG13 variant in a female with infantile epileptic encephalopathy with normal glycosylation and random X inactivation: Review of the literature. *Eur J Med Genet* 2017;60:541-547.
 165. von Spiczak S, Helbig KL, Shinde DL, Huether R, Pendziwiat M, Lourenço C et al. DNM1 encephalopathy. A new disease of vesicle fission. *Neurology* 2017;89:385–394.
 166. Cerruti Mainardi C. Cri du Chat syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:33.
 167. Toriello HV, Franco B, Bruel AL, Thauvin-Robinet C. Oral-Facial-Digital. Syndrome Type I. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mefford HC, Stephens K, Amemiya A, Ledbetter N, editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2017. □2002 Jul 24 [updated 2016 Aug 4].
 168. Damaj L, Lupien-Meilleur A, Lortie A, Riou É, Ospina LH, Gagnon L et al. CACNA1A haploinsufficiency causes cognitive impairment, autism and epileptic encephalopathy with mild cerebellar symptoms. *Eur J Hum Genet*. 2015;23:1505-12.
 169. Saitsu H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M et al. A girl with West

- syndrome and autistic features harboring a de novo TBL1XR1 mutation. *J Hum Genet.* 2014;59:581-3.
170. Anagnostou ME, Ng YS, Taylor RW, McFarland R. Epilepsy due to mutations in the mitochondrial polymerase gamma (POLG) gene: A clinical and molecular genetic review. *Epilepsia* 2016;57:1531–1545.
 171. Conant KD, Finucane B, Cleary N, Martin A, Muss C, Delany M et al. A survey of seizures and current treatments in 15q duplication syndrome. *Epilepsia* 2014; 55:396–402.
 172. Platzer K, Yuan H, Schütz H, Winschel A, Chen W, Hu C et al. GRIN2B encephalopathy: novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. *J Med Genet.* 2017;54:460-470.
 173. Zerem A, Haginoya K, Lev D, Blumkin L, Kivity S, Linder I et al. The molecular and phenotypic spectrum of IQSEC2-related epilepsy. *Epilepsia.* 2016;57:1858-1869.
 174. Tabarki B, AlMajhad N, AlHashem A, Shaheen R, Alkuraya FS. Homozygous KCNMA1 mutation as a cause of cerebellar atrophy, developmental delay and seizures. *Hum Genet.* 2016;135:1295-1298.
 175. Létard P, Drunat S, Vial Y, Duerinckx S, Ernault A, Amram D et al. Autosomal recessive primary microcephaly due to ASPM mutations: An update. *Hum Mutat.* 2018;39:319-332.
 176. Hu J, Liao J, Sathanoori M, Kochmar S, Sebastian J, Yatsenko SA et al. CNTN6 copy number variations in 14 patients: a possible candidate gene for neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *J Neurodev Disord* 2015;7:26.
 177. Grinberg I, Millen KJ. The ZIC gene family in development and disease. *Clin Genet.* 2005;67:290-6.
 178. Joshi C, Kolbe DL, Mansilla MA, Mason SO, Smith RJ, Campbell CA. Reducing the cost of the odyssey in early onset epileptic encephalopathies. *Biomed Res Int* 2016: 6421039.
 179. Ferraro L, Pollard JR, Helbig I. Attitudes toward epilepsy genetics testing among adult and pediatric epileptologists. Results of a Q-PULSE survey. *Epilepsy Curr.* 2016;16:46-7.
 180. Harkin LA, McMahon JM, Iona X, Dibbens L, Pelekanos JT, Zuberi SM et al. The spectrum of SCN1A-related infantile epileptic encephalopathies. *Brain* 2007;130: 843–852.

181. Wirrel EC, Shellhaas RA, Joshi C, Keator C, Kumar S, Mitchel WG. How should children with West syndrome be efficiently and accurately investigated? Results from the National Infantile Spasms Consortium. *Epilepsia*. 2015;56:617–625.
182. Prats-Viñas JM, Graizar-Axpe C. Espasmos infantiles (Síndrome de West): características y opciones terapéuticas. *Rev Neurol (Barc)*. 1996;24:1411-1414.
183. Mastrangelo M, Celato A, Leuzzi V. A diagnostic algorithm for the evaluation of early onset genetic-metabolic epileptic encephalopathies. *Eur J Paediatr Neurol*. 2012;16:179-91.
184. Gürsoy S, Erçal D. Diagnostic approach to genetic causes of early-onset epileptic encephalopathy. *J Child Neurol*. 2016;31:523-32.
185. Balestrini S, Sisodiya SM. Pharmacogenomics in epilepsy. *Neurosci Lett*. 2018;667:27-39.
186. Franco V, Perucca E. The pharmacogenomics of epilepsy. *Expert Rev Neurother*. 2015;15:1161-70.
187. Galanopoulou AR, Moshe SL. Pathogenesis and new candidate treatments for infantile spasms and early life epileptic encephalopathies: a view from preclinical studies. *Neurobiol Dis* 2015;79:135-149.
188. Catarino C, Liu J, Liagkouras I, Gibbons VS, Labrum RW, Ellis R et al. Dravet syndrome as epileptic encephalopathy: evidence from long-term course and neuropathology. *Brain* 2011; 134; 2982–3010.
189. Pierson TM, Yuan H, Marsh ED, Fuentes-Fajardo K, Adams DR, Markello T et al. GRIN2A mutation and early-onset epileptic encephalopathy: personalized therapy with memantine. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014;1:190-198.
190. Skjei KL, Church EW, Harding BN, Santi M, Holland-Bouley KD, Clancy RR et al. Clinical and histopathological outcomes in patients with SCN1A mutations undergoing surgery for epilepsy. *J Neurosurg Pediatr*. 2015;16:668-74.
191. Noebels JL. Single-gene determinants of epilepsy comorbidity. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015.2;5.
192. Bagnall RD, Crompton DE, Semsarian C. Genetic basis of sudden unexpected death

- in epilepsy. *Front Neurol*. 2017;8:348.
193. Herrmann LK, Welter E, Berg AT, Perzynski AT, Van Doren JR, Sajatovic M. Epilepsy misconceptions and stigma reduction: current status in Western countries. *Epilepsy Behav*. 2016;60:165-173.
 194. Shostak S, Ottman R. Ethical, legal, and social dimensions of epilepsy genetics. *Epilepsia*. 2006;47:1595-602.
 195. Berkovic SF, Harkin L, McMahon JM, Pelekanos JT, Zuberi SM, Wirrell EC et al. De-novo mutations of the sodium channel gene SCN1A in alleged vaccine encephalopathy: a retrospective study. *Lancet Neurol*. 2006;5:488-92.
 196. Helbig KL, Bernhardt BA, Conway LJ, Valverde KD, Helbig I, Sperling MR. Genetic risk perception and reproductive decision making among people with epilepsy. *Epilepsia*. 2010;51:1874-7.
 197. Barton K, Nickerson JP, Higgins T, Williams RK. Pediatric anesthesia and neurotoxicity: what the radiologist needs to know. *Pediatr Radiol*. 2018;48:31-36.
 198. Soto-Insuga V. How must we manage epileptic encephalopathies in infants) *Rev Neurol*. 2017;64:S77-S80.
 199. Olson H, Shen Y, Avallone J, Sheidley BR, Pinsky R, Bergin Am et al. Copy number variation plays an important role in clinical epilepsy. *Ann Neurol* 2014;75:943-958.
 200. Okeke JO, Tangel VE, Sorge ST, Hesdorffer DC, Winawer MR et al. Genetic testing preferences in families containing multiple individuals with epilepsy. *Epilepsia* 2014;55:1705-13.
 201. Roesch SC, Weiner B. A meta-analytic review of coping with illness. Do causal attributions matter? *J Psychosom Res* 2001;205-2019.
 202. Weber YG, Biskup S, Helbig KL, Von Spiczak S, Lerche H. The role of genetic testing in epilepsy diagnosis and management. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17:739-750.
 203. Soden SE, Saunders CJ, Willig LK, Farrow EG, Smith LD, Petrikin JE et al. Effectiveness of exome and genome sequencing guided by acuity of illness for diagnosis of neurodevelopmental disorders. *Sci Transl Med*. 2014;6:265ra168.

12. Anexos

12. ANEXOS

12.1. INVESTIGADORES Y HOSPITALES PARTICIPANTES

Hospitales

Participaron **27** centros hospitalarios heterogéneos: nacionales/internacionales, de asistencia pública/privada y de diferente nivel asistencial:

- | | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| 1. H.U. Fundación Jiménez Díaz | 15. H.U. Donostia |
| 2. H. Infantil U. Niño Jesús | 16. H. Sant Joan de Déu |
| 3. H.U. Fundación Alcorcón | 17. H. Virgen de la Salud (Toledo) |
| 4. H.U. Gregorio Marañón | 18. H.U. Puerta de Hierro |
| 5. H. Ruber Internacional | 19. H.U. Infanta Leonor |
| 6. H.U. Guadalajara | 20. H. Del Mar (Barcelona) |
| 7. H.U. Infanta Elena | 21. Clínica Universidad Navarra |
| 8. H.U. Rey Juan Carlos | 22. H.U. Albacete |
| 9. H. Clínico San Carlos | 23. H.U. Quirónsalud Madrid |
| 10. H.U. La Paz | 24. H.U. Quirónsalud A Coruña |
| 11. H.U. Burgos | 25. H.U. 12 de Octubre |
| 12. H.U. Ramón y Cajal | 26. H. Nuestra Señora del Rosario |
| 13. H.U. del Henares | 27. Universidad de la República |
| 14. H. Clínico U. Salamanca | (Uruguay) |

Investigadores

Participaron **48** médicos, tanto neurólogos como neuropediatras:

Beatriz González Giráldez (1)	Pilar Tirado Requero (10)
Rebeca Losada del Pozo (1)	Joaquín Arcas Martínez (10)
Juan José García Peñas (2)	David Conejo Moreno (11)
Jose Serratosa Fernández (1)	Monica Kurtis Urra (20)
Verónica Cantarín Extremera (2)	María Luz Ruiz Falcó (2)
Asunción García Pérez (3)	Gloria López Sobrino (8)
María Rodrigo Moreno (1)	Gustavo Lorenzo Sanz (12)
María Vázquez López (4)	Alfonso Verdú Pérez (17)
Laura Olivie García (1)	Carmela Martínez Martín (13)
Antonio Gil Nágel (5)	Rafael Toledano Delgado (5,12)
María Prados Álvarez (7)	Gema Iglesias Escalera (18)
Mª Concepción Miranda Herrero (4)	Michael Linder Lucht (20)
Gema Arriola Pereda (6)	David Sopelana Garay (22)
Elena Martínez Cayuelas (1)	Irene Ruiz de Ayúcar (14)
Cristina Castaño de la Mota (19)	María Carmen Carrascosa Romero (22)
Laura López Marín (2)	Antonio Martínez Bermejo (10)
Erika Jiménez González (8)	María Pilar Póo Argüelles (16)
Anna Duat Rodríguez (2)	Luis González Gutierrez Solana (2)
Miguel Ángel Martínez Granero (3)	Daniel Martínez Mayoralas (23)
Noemí Núñez Enamorado (25)	Tamara Pablos Sánchez (24)

Rosario Cazorla Calleja (18)

Gabriel González Rabelino (27)

Itxaso Martí Carrera (15)

Cristina Alarcón Morcillo (26)

María Carmen Fons Estupinà (16)

Adrián García Ron (9)

Pedro García Ruiz Espiga (1)

Víctor Soto Insuga (1)

12.3. CONSENTIMIENTO INFORMADO: "IMPACTO DEL ESTUDIO GENÉTICO DE LAS EPILEPSIAS"

Hoja de información al paciente

Proyecto: "Utilidad del diagnóstico genético en las epilepsias"

Estamos llevando a cabo un estudio para conocer el impacto en la calidad de vida de padres y/o cuidadores cuyos hijos han sido diagnosticados de una encefalopatía epiléptica. Este estudio está siendo coordinado desde la Unidad de Epilepsia de la Fundación Jiménez Díaz de Madrid.

Los objetivos del estudio son determinar el impacto del abordaje genético para el diagnóstico de las epilepsias graves de etiología desconocida en niños menos de 4 años (encefalopatías epilépticas), en distintos aspectos:

1. Determinar el impacto que produce sobre la calidad de vida de padres, cuidadores y pacientes.
2. Determinar el impacto en su diagnóstico.
3. Determinar el impacto en su manejo y tratamiento.

Puede participar en este estudio si es padre o cuidador principal de un paciente que sufra una epilepsia de posible etiología genética. Su participación exige responder a una serie de cuestionarios además de participar en el estudio de "Genética Molecular de las Epilepsias" (ver hoja de información y consentimiento informado adjuntos).

Su participación es voluntaria. Si interviene en este estudio debe saber que en cualquier momento puede decidir no seguir participando, comunicándoselo a su médico sin tener que manifestar razón alguna para ello. Su médico también podrá retirarle del estudio si así lo creyera conveniente. De acuerdo con la ley vigente tiene usted derecho al acceso de sus datos personales y a los de su hijo; asimismo, y si está justificado, tiene derecho a su rectificación y cancelación. Si así lo desea, deberá solicitarlo al médico que le atiende en este estudio.

Todos los datos generados en esta investigación serán tratados en la más absoluta confidencialidad. Los documentos que le identifiquen serán confidenciales y, dentro de lo permitido por las leyes y regulaciones pertinentes (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal) y no estarán a disposición pública. En caso de publicación de los resultados que deriven de la investigación la identidad del sujeto permanecerá confidencial.

Ante cualquier eventualidad que pudiera surgir mientras esté participando en este estudio o para cualquier pregunta sobre el mismo que desee realizar tras leer este documento por favor diríjase a:

Dr. Víctor Soto Insuga

Dirección: Servicio de Pediatría. Fundación Jiménez Díaz. Avda Reyes Católicos 2, 28040 Madrid (España).

Mail de contacto: victor.soto@fjd.es

Consentimiento informado

Proyecto: "Utilidad del diagnóstico genético en las epilepsias"

Yo (nombre y apellidos)

-
- He leído la hoja de información que se me ha entregado.
 - He podido hacer preguntas sobre el estudio.
 - He recibido suficiente información sobre el estudio.
 - Autorizo al Dr. Víctor Soto Insuga a incluir mis datos personales en su base de datos siempre que estos datos permanezcan en su laboratorio y estén codificados.

He hablado con el Dr. (nombre y apellidos)

.....

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Si que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

.....

Firma del participante

..... / /

Día Mes Año

.....

Firma del investigador
(persona que solicita el consentimiento)

..... / /

Día Mes Año

12.4. CONSENTIMIENTO INFORMADO: "GENÉTICA MOLECULAR DE LAS EPILEPSIAS"

Laboratorio de Neurología-Epilepsia
Fundación Jiménez Díaz
Avda Reyes Católicos, 2
28040 Madrid
Teléfono: 915504800 ext 3451

HOJA DE INFORMACION

PROYECTO: GENETICA MOLECULAR DE LAS EPILEPSIAS (SAF2010-18586)
INVESTIGADOR PRINCIPAL: DOCTOR JOSE M SERRATOSA FERNANDEZ

Como usted sabe, usted o su hijo/a padece una epilepsia de origen desconocido (idiopática). Algunos genes responsables de estas enfermedades han sido localizados en regiones cromosómicas o identificados. Con el fin de continuar las investigaciones dirigidas a identificar otros genes implicados, necesitamos estudiar el contenido genético (ADN) de familias y pacientes con alguna forma de epilepsia idiopática. El objetivo de esta investigación es estudiar qué función tienen los genes responsables de las epilepsias idiopáticas y por qué se produce la enfermedad. Los resultados de este proyecto de investigación ayudarán a comprender por qué se producen estas enfermedades y a mejorar su tratamiento.

Si decide participar en este estudio obtendremos durante una entrevista un árbol genealógico de su familia, una historia sobre antecedentes familiares de crisis epilépticas y/o una historia médica sobre usted y su hijo/a. Esta entrevista podrá durar de una hora a una hora y media y durante la misma se podrán aclarar todas las dudas sobre el estudio que tenga o si lo cree necesario puede consultar con otras personas (familiares, amigos, médico de familia, etc.).

Todos los datos generados en esta investigación serán tratados en la más absoluta confidencialidad. Para ello, después de la extracción de la muestra de sangre, las muestras serán codificadas para mantener el anonimato, con clave de acceso únicamente para el/los investigador/es asociados al proyecto. Los documentos que le identifiquen serán confidenciales y, dentro de lo permitido por las leyes y regulaciones pertinentes (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal), y no estarán a disposición pública. En caso de publicación de los resultados que deriven de la investigación, la identidad del sujeto permanecerá confidencial. El sujeto tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de sus datos en cualquier momento.

Es posible que necesitemos registrar un trazado de las ondas cerebrales suyas y/o de su hijo/a mediante un electroencefalograma (EEG) o video-EEG. Durante el registro del EEG o del video-EEG serán colocados en la cabeza unos pequeños discos metálicos denominados electrodos que se pegarán con pasta. El patrón de los impulsos eléctricos será registrado mediante plumas sobre papel. Existen algunos pequeños riesgos asociados con este procedimiento: reacciones alérgicas ocasionadas por la pasta que se usa para fijar los electrodos así como una pequeña posibilidad de precipitar una crisis epiléptica durante la estimulación luminosa intermitente. El EEG será realizado por personal especializado.

Para estudiar el material genético de su sangre es necesario realizar una extracción de sangre (5 mililitros en el caso de niños de 3 a 5 años, 10 mililitros en el caso de niños de 5 a 10 años o 20 mililitros en el caso de mayores de 10 años). Los riesgos asociados con la extracción de las muestras de sangre son: dolor, inflamación, hematomas y posibilidad de infección en la zona donde la sangre fue extraída. La sangre será extraída únicamente por personal especializado.

El presente estudio es una investigación y no una prueba clínica. No es previsible que se obtengan resultados diagnósticos ni terapéuticos en un futuro cercano. Si algún día se obtienen resultados de utilidad para usted y el tratamiento de su enfermedad será contactado por nosotros.

La participación en esta investigación es voluntaria y su decisión, sea cual sea, no afectará a la atención médica de su hijo/hija.

Laboratorio de Neurología-Epilepsia
Fundación Jiménez Díaz
Avda Reyes Católicos, 2
28040 Madrid
Teléfono: 915504800 ext 3451

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACION EN ESTUDIO DE INVESTIGACION

PROYECTO: GENETICA MOLECULAR DE LAS EPILEPSIAS (SAF2010-18586)
INVESTIGADOR PRINCIPAL: DOCTOR JOSE M SERRATOSA FERNANDEZ

Nombre: _____

Fecha de nacimiento: _____

Dirección: _____

Teléfono: _____

1. Autorizo al Doctor en Medicina José M Serratosa Fernández y/o a sus colaboradores a incluirme a mí o a mi hijo/a en el presente proyecto de investigación una vez leída y comprendida la hoja de información adjunta y hechas todas las preguntas que me han surgido.

2. El fin de esta investigación es estudiar los genes responsables de las epilepsias de origen desconocido. Los resultados de este proyecto de investigación ayudarán a comprender por qué se producen estas enfermedades y a mejorar su tratamiento.

3. Entiendo que yo y/o mi hijo/a seremos entrevistados para obtener un árbol genealógico, una historia sobre antecedentes familiares de crisis epilépticas y/o una historia médica sobre mí o mi hijo/a. Esta entrevista podrá durar de una hora a una hora y media. Los datos permanecerán en el laboratorio del grupo, estarán codificados y serán confidenciales.

4. En caso de que sea necesario autorizo a que se realice a mí o a mi hijo/a un registro de las ondas cerebrales mediante un electroencefalograma (EEG) o un video-EEG. Durante el registro del EEG o del video-EEG serán colocados en la cabeza unos pequeños discos metálicos denominados electrodos que se pegarán con pasta. El patrón de los impulsos eléctricos será registrado mediante plumas sobre papel. Existen algunos riesgos asociados con este procedimiento: reacciones alérgicas ocasionadas por la pasta que se usa para fijar los electrodos así como una pequeña posibilidad de precipitar una crisis epiléptica durante la estimulación luminosa intermitente. El EEG será realizado por personal especializado.

5. Entiendo también que a mí o a mi hijo/a nos tomarán una muestra de sangre (5 mililitros en el caso de niños de 3 a 5 años, 10 mililitros en el caso de niños de 5 a 10 años o 20 mililitros en el caso de mayores de 10 años) para extraer ADN y analizar el material genético contenido en los glóbulos blancos de la sangre. En algunos casos se establecerán líneas celulares permanentes mediante la immortalización de los glóbulos blancos de la sangre. Los riesgos asociados con la extracción de las muestras de sangre son: dolor, inflamación, hematomas y posibilidad de infección en la zona donde la sangre fue extraída. La sangre será extraída únicamente por personal especializado. Las muestras serán almacenadas tras ser codificadas para mantener el anonimato.

6. Autorizo al grupo del Dr. José M Serratosa Fernández a incluir mis datos personales en su base de datos siempre que estos datos permanezcan en su laboratorio y estén codificados.

7. He sido informado de que mi participación en esta investigación es voluntaria y que no afectará en nada a la atención médica mía o de mi hijo/hija. También he sido informado/a de que podré retirarme del estudio en cualquier momento.

FIRMA Y FECHA DEL PARTICIPANTE*

FIRMA Y FECHA DEL INVESTIGADOR
PRINCIPAL O COLABORADOR

NOMBRE _____

NOMBRE _____

*Si la persona participante es un menor de edad o está incapacitada para firmar, un responsable legal (generalmente uno de los padres) deberá firmar arriba indicando entre paréntesis el nombre y el parentesco.

12.5. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS ETIOLÓGICOS REALIZADOS EN LOS PACIENTES DEL ESTUDIO

(1) Analítica con perfil metabólico: screening de errores congénitos del metabolismo (incluye al menos determinación sanguínea de glucosa, perfil hepático, gasometría venosa, láctico, amonio e ionograma). **(2)** MLPA de retraso generalizado del desarrollo usando MLPA de regiones asociadas a RPM/DI mediante Salsas P036E1, P070B1 y P245B1. **(3)** Array CGH 60 k personalizado en regiones de interés (*CNKSR2* y *GRIN2A*) hasta 1M

NID: no información disponible; **TAC:** tomografía axial computarizada; **RM:** resonancia craneal; **AA:** aminoácidos; **AO:** ácidos orgánicos; **Nts:** neurotransmisores; **PEV:** potenciales evocados visuales; **PEAT:** potenciales evocados auditivos de tronco; **EMG:** electromiograma; **ENG:** electroneurograma; **VUS:** variante de significado clínico incierto; **AAA:** alfa aminio adípico; **s/o/l:** sangre, orina y LCR; **GAA:** glucosaminoglucanos; **EE:** encefalopatías epilépticas.

Caso	Gen	Pruebas complementarias realizadas previas al estudio genético dirigido	Técnicas genéticas	Significado mutación	Defecto genético
1	<i>SCN1A</i>	TAC, RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial y MLPA de gen candidato (<i>SCN1A</i>), exoma completo	Patogénica	c.1121C>A,p. Ser374Tyr
2	<i>SCN1A</i>	RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SCN1A</i>)	Patogénica	c.5779A>G,p.Arg 1927Gly.
3	<i>SCN1A</i>	RM 1,5T (x9); analítica con perfil metabólico ¹ ; cariotipo	Análisis secuencial de gen candidato (<i>PCDH19</i> , <i>SCN1A</i>)	Patogénica	c.3696T>A,p. Ser1231Arg
4	<i>SCN1A</i>	RM 1,5T (x3), RM 3T, PET; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio oftalmológico (PEV); anticuerpos antineuronales	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SCN1A</i>)	Probab. patogénica	Heterocigosis (c.1458C>G)
5	<i>SCN1A</i>	TAC, RM 1,5T (x2), analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s); estudio neurofisiológico (ENG/PESS); anticuerpos antineuronales; cariotipo, estudio de X frágil	Análisis secuencial y MLPA de gen candidato (<i>SLC2A1</i> , <i>SCN1A</i>)	Probab. patogénica	c.5782C>G
6	<i>SCN1A</i>	NID	Secuenciación y MLPA de gen candidato (<i>SCN1A</i>)	Patogénica	Delección intragénica <i>SCN1A</i> . (NID)
7	<i>SCN1A</i>	RM 1,5T (x3); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o); cariotipo, MLPA de RGD ²	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SCN1A</i>)	Patogénica	c.1880G>p.Arg627 Lys
8	<i>SCN1A</i>	RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹	Panel multigénico de EE (no especificado el número de genes estudiados)	Probab. patogénica	c.1837C>T,p. Arg613Ter
9	<i>SCN1A</i>	TAC, no recuerdan otras pruebas realizadas	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SCN1A</i>)	Patogénica	c.5010_5013 delGTTTP,p. Phe1671Trsfs
10	<i>SCN1A</i>	TAC; analítica con perfil metabólico ¹ ; no recuerdan otras pruebas realizadas	Análisis secuencial y MLPA de gen candidato (<i>SCN1A</i> , <i>GABRG2</i>)	Patogénica	c.2235delA/Lys745 fs746X

11	SCN1A	RM 1,5T (x2), SPECT; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (SCN1A)	Patogénica	c.5734C>T,p. Arg1912Ter
12	SCN1A	RM 1,5T (x2); estudio neurofisiológico (EMG/ENG)	Panel multigénico de EE (83 genes)	Probab. patogénica	c.4285G>C,A 1429P (SCN1A) c.2372A>C,p. G1791Pro (CDKL5)
13	SCN1A	TAC, no recuerdan otras pruebas realizadas	Análisis secuencial de gen candidato (SCN1A)	Patogénica	c.3985C>T,p. Arg1329ter
14	SCN1A	No recuerdan pruebas complementarias realizadas	Análisis secuencial de gen candidato (SCN1A)	Patogénica	c.1130G>C,p. Arg377Pro
15	SCN1A	Neumoencefalografía, TAC, RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (no especificado aunque se realizaron determinaciones de s/o/l)	Análisis secuencial de gen candidato (SCN1A)	Patogénica	c.4317T>G,p. Tyr1439Ter
16	PRRT2	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649dupC,p. Arg217ProfsX
17	PRRT2	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO, creatina, SAICAR, biotinidasa, CDG, pipecólico)	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.121_122delGT,p. Val41ThrfsX
18	PRRT2	Analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649dupC,p. Arg217ProfsX
19	PRRT2	Analítica con perfil metabólico ¹ , citoquímica de LCR, estudio metabólico ampliado (sulfitest)	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649dupC,p. Arg217ProfsX
20	PRRT2	RM 1,5T (x2), analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.121_122delGT,p Val41ThrfsX
21	PRRT2	No se realizaron pruebas complementarias	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.121_122delGT,p Val41ThrfsX

22	PRRT2	RM 1,5T, analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.121_122delGT,p Val41ThrfsX
23	PRRT2	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, SAICAR, biotinidasa, pipecólico), estudio enfermedades lisosomales (Fabry, Gaucher); estudio neurofisiológico (EMG); estudio oftalmológico, estudio cardiológico	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649dupC p.Arg21ProfsX
24	PRRT2	TAC, RM 1,5T (x2)	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649dupC p.Arg21ProfsX
25	PRRT2	RM 1,5T (x2), RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649dupC p.Arg21ProfsX
26	PRRT2	Estudio de neuroimagen no especificado; analítica con perfil metabólico ¹ , citoquímica de LCR, estudio metabólico ampliado (AO, creatina, SAICAR, pipecólico, AAA, Nts); estudio cardiológico, estudio oftalmológico (PEV)	Análisis secuencial de gen candidato (PRRT2)	Patogénica	c.649_650insC,p.Arg217ProfsX
27	KCNQ2	RM 1,5T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, purinas y pirimidinas, pipecólico, SAICAR, Nts)	array CGH 60k, panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.602G>A,p.Arg201His
28	KCNQ2	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (KCNQ2)	Patogénica	c.2073delT,p.Val692SerfsX220
29	KCNQ2	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, pipecólico, sulfite, Nts); cariotipo, MLPA de RGD ² .	Análisis secuencial y MLPA de gen candidato (STXBP1,ARX,CDKL5), panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.602G>A,p.Arg201His
30	KCNQ2	RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , citoquímica de LCR, estudio metabólico (x2) (AA s/o/l, AO, acilcarnitinas, SAICAR, CDG, purinas y pirimidinas, AGCML, biotinidasa, Nts); estudio cardiológico, estudio oftalmológico (PEV); ecografía abdominal; cariotipo (x2)	array CGH 60 k, panel multigénico de EE (67 genes)	Probab. patogénica	c.691G>A,p.Glu231Lys
31	KCNQ2	RM 1,5T (x2), RM espectroscópica (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, sulfite, SAICAR, pipecólico, láctico/pirúvico, CDG, Nts), biopsia muscular (mitocondrial);sobrecarga oral glucosa, estudio cardiológico, oftalmológico, ecografía, CFTR	Panel multigénico de EE (10 genes)	Patogénica	c.881C>T,p.Ala294Val

32	KCNQ2	TAC, RM 1,5T (x2), RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, creatina, purinas y pirimidinas, pipecólico, AAA, Nts), estudio metabólico ampliado (AA s); cariotipo	Panel multigénico de EE (29 genes)	Patogénica	c.810G>T,p. Trp270Cys
33	KCNQ2	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, CDG, purinas y pirimidinas, sulfite, CDG, SAICAR, AGCML, AAA, Nts), estudio metabólico ampliado (SAICAR); biopsia muscular (estudio mitocondrial); estudio neurofisiológico (EMG/ENG); estudio oftalmológico (PEV), estudio cardiológico, PCR de CMV	Panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.601C>T,p. Arg201Cys
34	KCNQ2	RM1,5T (x2), RM craneo-medular; analítica con perfil metabólico ¹ , citocimica de LCR, estudio metabólico ampliado (x2) (s/o/l, AO, sulfite, cuerpos reductores, AADP, pipecólico, amonio, Nts, CDT, SAICAR, creatina, biotinidasa); biopsia muscular (estudio mitocondrial); estudio cardiológico, estudio oftalmológico (PEV); genética de síndrome de hipoventilación central congénito; estudio neuofisiológico (EMG/ENG)	Cariotipo, panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.803T>C,p. Leu268Pro
35	GRIN2A	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s, AO); estudio ORL (PEAT), estudio oftalmológico (PEV); cariotipo, estudio de X frágil	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN2A</i>)	Probab. patogénica	c.2458G>A,p. Val820Ile
36	GRIN2A	TAC, RM 1,5T, RM 3T-PET; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN2A</i>)	Patogénica	c.545delG,p. Glu182AsnFsX
37	GRIN2A	RM 3T, analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN2A</i>)	Probab. patogénica	c.3228C>A,p. Asn1076Lys
38	GRIN2A	TAC, RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN2A</i>)	Probab. patogénica	c.3228C>A,p. Asn1076Lys
39	GRIN2A	TAC, RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ ; cariotipo, MLPA de RPM ²	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN2A</i>)	Probab. patogénica	c.135insT,p.Val452CysfsX11
40	PCDH19	TAC, RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO, Nts); cariotipo	Análisis secuencial de gen candidato (<i>PCDH19</i>)	Probab. patogénica	c.866T>C,p.Phe289Ser

41	<i>PCDH19</i>	TAC (x3), RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (estudio no especificado en sangre, orina y LCR hace 20 años)	Análisis secuencial de gen candidato (<i>PCDH19</i>)	Patogénica	"Mutación puntual de novo" (NID)
42	<i>PCDH19</i>	RM 3T, PET; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (<i>PCDH19</i>)	Patogénica	c.83delC,p. Ser28Trpfs
43	<i>PCDH19</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico	Análisis secuencial y MLPA de gen candidato (<i>PCDH19</i>)	Patogénica	"deleción gen completo en heterocigosis"
44	<i>CDKL5</i>	RM 1,5T (x2), RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l; biotinidasa, CDT, B6, GAA, sulfitefst, purinas y pirimidinas, creatina, Nts); biopsia muscular (estudio mitocondrial); estudio cardiológico, estudio oftalmológico (PEV)	Cariotipo, array CGH 60k, panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.52_53insT,p.Val19CysfsX3
45	<i>CDKL5</i>	RM 1,5T (x2), RM espectroscópica, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, acilcarnitinas, sulfitefst, GAA y creatina, CDG, SAICAR, purinas y pirimidinas, SAICAR, AAA, tiamina I, Nts), estudio metabólico ampliado (biotinidasa, CDG), estudio metabólico ampliado (OGS orina), coenzima Q10 (paciente y madre), biopsia muscular (estudio mitocondrial); estudio oftalmológico (PEV), estudio cardiológico, ecografía abdominal	Panel multigénico de EE (343 genes), análisis ADN codificante de SLC19A3, estudio de inactivación del X	Probab. patogénica	c.2459A>G,p. Glu820Gly
46	<i>CDKL5</i>	RM1,5T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, CDT, B6, sulfitefst, GAA y creatina, purinas y pirimidinas, creatina, Nts); cariotipo (x2), estudio síndrome X frágil, MLPA de RGD ² .	Análisis secuencial y MLPA de gen candidato (<i>SLC2A1</i>), MLPA de genes Rett (<i>MECP2, CDKL5, ARX, NNG1</i>), panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.337G>A,p. Cys126Tyr
47	<i>KCNA2</i>	RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio citoquímico de LCR, estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, GAA y creatina, pipecólico, Nts); biopsia piel (microscopía electrónica); cariotipo, MLPA de RPM*, secuenciación gen TCFN; ecografía abdominal	FISH (SNRPN,UB3A) y panel multigénico de EE (122 genes)	Patogénica	c.8690G>A,p.Arg297Gln (GOF)
48	<i>KCNA2</i>	RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO, CDG, pipecólico, Nts); cariotipo	Cariotipo, exoma completo	Patogénica	c.1214C>T,p.Pro405Leu (LOF)
49	<i>KCNA2</i>	RM 1,5T (x3), RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ , citoquímica de LCR, estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO); estudio	array CGH, análisis secuencial de gen	Patogénica	c.890G>A,p.Arg29

		oftalmológico (PEV), ecografía abdominal; panel NGS de genes de ataxias espino-cerebelosas	candidato (<i>KCNA2</i>)		7Gln
50	<i>SLC2A1</i>	RM1,5T (x2), analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s/o/I, AO, CDG, SAICAR, Nts)	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SLC2A1</i>)	Patogénica	c.115-2A>G (sitio aceptor del <i>splicing</i>)
51	<i>SLC2A1</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ ; cariotipo, array CGH 60k	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SLC2A1</i>)	Patogénica	c.847C>T, p. Gln283Ter
52	<i>ARX</i>	RM 1,5T (x2), RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o; AO; AGCML, acilcarnitinas, CDG, biotinidasa, SAICAR); estudio neurofisiológico (EMG/ENG); estudio oftalmológico (PEV); MLPA de RGD ²	array CGH 60k, análisis secuencial de gen candidato (<i>ARX</i> , <i>SPTAN1</i>), panel multigénico de EE (343 genes)	Patogénica	c.1135C>T, p. Arg379Cys
53	<i>ARX</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/I, AO, sulfite, CDG, SAICAR, purinas y pirimidinas, Nts); estudio histológico cabello; estudio oftalmológico (PEV); estudio ORL, estudio cardiológico, ecografía abdominal	Panel multigénico de EE (83 genes)	Patogénica	c.1956G>A, p. Gly66Ser
54	<i>GRIN1</i>	RM 1,5T (x2), RM 3T, RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio citoquímico de LCR, estudio metabólico ampliado (AA s/o/I, AO, creatina, GAA, SAICAR, Nts, CDT, biotinidasa, AGCML, purinas y pirimidinas); biopsia muscular (estudio mitocondrial), estudio cardiológico, estudio oftalmológico (PEV); estudio neurofisiológico (EMG/ENG)	Panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.2504C>A, p. Ala835Asp
55	<i>GRIN1</i>	RM 1,5T, RM 3T; citoquímica de LCR; biopsia piel (estudio enfermedades lisosomales), estudio ORL (PEAT), estudio oftalmológico (PEV), ecografía abdominal	Exoma clínico (115 genes)	Patogénica	c.1852G>A; p. Glu618Lys
56	<i>STXBP1</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/I, AO, CDG, SAICAR, AGCML, sulfite, pipecólico, Nts)	Análisis secuencial de gen candidato (<i>STXBP1</i>)	Probab. patogénica	c.1249+2T>C
57	<i>STXBP1</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , citoquímica de LCR, estudio metabólico ampliado (AA s/o/I, AO, biotinidasa, SAICAR, purinas y pirimidinas, pipecólico, AAA, Nts); estudio oftalmológico (PEV)	Análisis secuencial de gen candidato (<i>PRRT2</i> , <i>KCNQ2</i>), panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.1216C>T, p. Arg406Cys

58	<i>CNKS2</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, acilcarnitinas, AGCML, GAA y creatina, CDG, biotinidasa, SAICAR, pipercolico, purinas y pirimidinas, Nts); cariotipo, MLPA de RGD ²	Análisis secuencial de gen candidato (GRIN2A), array CGH 60k, array CGH 60k específico ³	Patogénica	del10kb ChrX:21609392-21619786
59	<i>CNKS2</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SCN1A</i>), exoma completo	Patogénica	c.246_247delAG,p.Thr82Thrfs
60	<i>SYNGAP</i>	RM 1,5T (x2), cariotipo	Análisis secuencial y MLPA del gen candidato (<i>SLC2A1, SCN1A</i>), panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.333_334insG,p.Lys114Glufs Ter38
61	<i>SYNGAP</i>	RM 1,5T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO, CDG, purinas y pirimidinas, biotinidasa, acilcarnitinas, pipercolico, AAA, GAA y creatina); cariotipo, estudio de X fragil, MLPA de RGD ² , array CGH	FISH (<i>SNRPN, UB3A</i>), panel multigénico de EE (105 genes), exoma clínico (134 genes)	Probabl. patogénica	c.1913+5G>A
62	<i>KANSL1</i>	RM1,5T, RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, amonio, lactico, creatina, GAA); cariotipo y estudio X fragil	array CGH 180k	Patogénica	del59.79-581.55Kb chr17:44216013-44275738
63	<i>KANSL1</i>	RM1,5T, RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, amonio, lactico, creatina, GAA); cariotipo y estudio X fragil	array CGH 180k	Patogénica	del59.79-581.55Kb chr17:44216013-44275738
64	<i>MECP2</i>	No datos disponibles	NID (½MLPA con salsa específica de síndrome de Rett)	Patogénica	"Mutación puntual de novo" (NID)
65	<i>MECP2</i>	RM 1,5T (x2), RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio neurofisiológico (EMG/ENG, EMG jitter); estudio oftalmológico (PEV); cariotipo, MLPA de RGD ²	MLPA con salsa específica síndrome de Rett, análisis secuencial de gen candidato (<i>MECP2</i>)	Patogénica	c.1280_1335del56pb,p.Asp427GlyfsTer39
66	<i>UB3A</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO, acilcarnitinas, Nts)	FISH (<i>SNRPN, UB3A</i>)	Patogénica	"Variante en heterocigosis"
67	<i>ALG13</i>	TAC, RM 1,5T (x2); analítica con perfil metabólico; serie ósea	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SCN1A</i>)	Patogénica	c.320A>G,p.Asn107Ser

68	<i>SCN1B</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ , citoquímica de LCR, estudio metabólico (AA s/o/l, AO, biotinidasa, GAA y creatina, CDG, SAICAR, láctico/pirúvico, Nts); cariotipo	Panel multigénico de EE (343 genes)	Probab. patogénica	c.632G>A,p. Cys211Tyr
69	<i>DCX</i>	RM 1,5T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA a paciente y a la madre); cariotipo, estudio de X frágil	FISH (LIS1), panel multigénico de EE (83 genes)	Patogénica	c.744delT,p.Ser248 ArgfsX23
70	<i>DNM1</i>	RM 1,5T, angio-RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, purinas y pirimidinas, GAA y creatina, CDG, biotinidasa, SAICAR, pipecólico, Nts); cariotipo, MLPA de RPM ²	Panel multigénico de EE (67genes)	Probabl. patogénica	c.137C>G,p. Ser46Trp
71	Delección 5p	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ ; ecografía abdominal	Cariotipo	Patogénica	46XX,der(5)t(5,8)(p15.1;p21.1)pct
72	<i>OFD1</i>	RM 1,5T (x3); analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio ORL (PEAT)	Panel multigénico de EE (122 genes)	Patogénica	c.2489-2-2489delAGC splicing
73	<i>RELN</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹	Panel multigénico de EE (343 genes)	Probab. patogénica	c.10288A>C,p.Thr3430Pro
74	<i>CACNA1A</i>	RM 1,5T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s/o, AO, biotinidasa, CDG, SAICAR, pipecólico); biopsia muscular (estudio mitocondrial); estudio oftalmológico (PEV), estudio ORL; cariotipo, estudio de X frágil	Exoma clínico (134 genes)	Probab. patogénica	c.2638C>T,p. Arg880Trp
75	<i>TBL1XR1</i>	RM 1,5T; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio oftalmológico (PEV), estudio ORL (PEAT); cariotipo (x2), estudio de X frágil	array CGH 60k	Patogénica	del87-1,16Mb chr3:176720110-177692976
76	<i>POLG</i>	RM 1,5T (x2); cariotipo	Análisis secuencial de gen candidato (<i>SRPX2</i>), panel multigénico de EE (105 genes)	Patogénica	c.156_158dupGC A,p.Gln52 dup (materna) c.2492A>G,p.Tyr831Cys (paterna)

77	Dup15q	RM 3T, RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ ; cariotipo, estudio de X frágil	array CGH 60k	Patogénica	dup5,86-6,39Mb chr15q11.1q13:1522 835886-28513166
78	KCNJ10	PEAT, RM 1,5T, RM 1,5T medular, RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico, citoquímica de LCR, estudio metabólico ampliado (sulfite, AA s/o/l, AO, sulfite, Nts), estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, CDG, AGCML, GAA y creatina)	array CGH 60K, exoma clínico (134 genes)	Probabl. patogénica	dup 2,92 Mb-3,11 Mb 9q21.33-q22.1
79	Dup 9q21-q22	RM 3T, analítica con perfil metabólico; estudio metabólico ampliado ¹ (AA s/o/l, AO, biotinidasa, sulfite, acilcarnitinas, CDG, AGCML, SAICAR, purinas y pirimidinas, pipecólico, AAA, Nts); cariotipo	array CGH 60k	Probabl. patogénica	c.1451G>A,p.Gly484Asp
80	Transl. CHR15	RM 1,5T; estudio ORL (PEAT)	Cariotipo	Patogénica	"Translocación cromosoma 5"
81	IQSEC2	RM 1,5T, RM espectroscópica (x2), RM 3T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, acilcarnitinas, GAA y creatina, SAICAR, CDG pipecólico, AAA, purinas y pirimidinas, Nts); estudio ORL; cariotipo, MLPA de RPM, array CGH 60k	MLPA con salsa específica de síndrome de Rett, exoma clínico (242 genes), estudio de inactivación del X	VUS	c.1552C>T,p. Leu518Phe
82	SCN4A	RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, biotinidasa, acilcarnitinas, CDG, GAA y creatina, pipecólico, AAA, purinas y pirimidinas,Nts), estudio ORL (PEAT)	Panel multigénico de EE (343 genes)	VUS	c.3877G>A,p. Val1293Ile
83	KCNMA1	RM 1,5 (x3), RM 3T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, creatina, SAICAR, CDG, Nts); estudio ORL (PEAT); cariotipo, estudio de X frágil, secuenciación de gen <i>RPS6KA3</i>	array CGH 60k, panel multigénico de EE (343 genes)	VUS	c.2984A>G,p. Asn995Ser
84	ASPM	RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, acilcarnitinas, biotinidasa, GAA y creatina; purinas y pirimidinas, CDG, pipecólico, AAA, Nts), estudio metabólico ampliado (purinas y pirimidinas); estudio oftalmológico (PEV); cariotipo	Panel multigénico de EE (343 genes)	VUS	Heterocigosis compuesta: c.5000G>A,p.Arg1667His (variante 1) c.9578G>A,p.Arg3193His (variante 2)
85	CHRNA4	RM 1,5T; RM espectroscópica; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, sulfite, biotinidasa, CDG, SAICAR,	Análisis secuencial de gen candidato (CDKL5,SLC2A1), panel multigénico de EE (105	VUS	c.860T>C,

		láctico/pirúvico, piropecólico, AAA, Nts); PCR de CMV; estudio cardiológico; estudio oftalmológico (PEV)	genes)		p.Val287Ala
86	Dup <i>CNTN6</i> y <i>GPRIN1</i>	RM 1,5T, RM 3T; analítica con perfil metabólico ¹ ; estudio cardiológico; cariotipo, estudio de X frágil	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN2A</i>), array CGH 60k específico ³	VUS	dup 1,175Kb Chr10: 46949255-48124262
87	Delección 3q24	RM 1,5T, RM 3T	Cariotipo, array CGH 60k	VUS	del975.06Kb-1.06Mb chr3:147181903-148156997.
88	Dup 11q24.3	RM 1,5T (x2); analítica con perfil metabólico ¹ , estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, purinas y pirimidinas, GAA, creatina, CDG, creatina, actividad de biotinidasa, acilcarnitinas, SAICAR); cariotipo, estudio de X frágil, FISH síndrome de Williams	array CGH 60 k	VUS	dup180,85-239,65Kb chr11:128692966-128843817
89	Dup 15q11.2	RM 1,5T, analítica con perfil metabólico, estudio metabólico ampliado (AA s/o/l, AO, biotinidasa, SAICAR, CDG, creatina, acilcarnitinas, piropecólico, AAA, sulfite), cariotipo, estudio oftalmológico, biopsia muscular (estudio mitocondrial)	Análisis secuencial de gen candidato (<i>GRIN1</i> , <i>CDKL5</i> , <i>SLC2A1</i>), array CGH 60 k	VUS	dup263.20kb-23.72Mb chr15:22,822,019-23,085,219

12.6. PUBLICACIONES EN MONOGRAFÍAS O REVISTAS CIENTÍFICAS INDEXADAS DERIVADAS DEL ESTUDIO

Revistas indexadas


- **Soto-Insuga V**, Losada del Pozo R, Giráldez BG, Alarcón Morcillo C, Rodrigo Moreno M, Ortega Moreno L et al. Glut1 deficiency is a rare but treatable cause of childhood absence epilepsy with atypical features. Pendiente de publicación en Revista *Epilepsia*.
- Ortega-Moreno L, Giráldez BG, **Soto-Insuga V**, Losada-Del Pozo R, Rodrigo-Moreno M, Alarcón-Morcillo C et al. Molecular diagnosis of patients with epilepsy and developmental delay using a customized panel of epilepsy genes. PLoS One. 2017;12: e0188978.
- **Soto-Insuga V**. How must we manage epileptic encephalopathies in infants? Conclusions. Rev Neurol. 2017;64:S77-S80.

Monografías

- Síndromes con mutaciones en *SCN1A* y genes relacionados. **Soto-Insuga V**. En: Síndromes epilépticos (Grupo de estudio de Síndromes Epilépticos de la Sociedad Española de Epilepsia). Pendiente de publicación. 2018.


- Revista *Epilepsia* (pendiente de aceptación)

Epilepsia



Glut1 deficiency is a rare but treatable cause of childhood absence epilepsy with atypical features

Journal:	Epilepsia
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Brief Communication (includes Case Reports)
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	<p>Soto Insuga, Victor; Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, UAM,, Pediatrics</p> <p>Losada del pozo, Rebeca; Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, UAM,, Pediatrics</p> <p>González-Giráldez, Beatriz; Neurology Lab and Epilepsy Unit, IIS- Fundación Jiménez Díaz, UAM,, Neurology; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Neurology</p> <p>Alarcón-Morcillo, Cristina; IIS- Fundación Jiménez Díaz, Neurology Laboratory and Epilepsy Unit, Department of Neurology</p> <p>Rodrigo Moreno, María ; Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, UAM, Pediatrics</p> <p>Díaz-Gómez, Esther; Epilepsy Unit, Fundación Jiménez Díaz, Neurology</p> <p>Ortega, Laura; Neurology Lab and Epilepsy Unit, IIS- Fundación Jiménez Díaz, Neurology</p> <p>Sánchez-Martín, Gema; Neurology Lab and Epilepsy Unit, , IIS- Fundación Jiménez Díaz, Neurology</p> <p>Serratos, Jose; Neurology Lab and Epilepsy Unit, IIS- Fundación Jiménez Díaz,, Neurology; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Neurology</p> <p>Guerrero, Rosa; Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER),, Neurology; Neurology Lab and Epilepsy Unit IIS- Fundación Jiménez Díaz, UAM, Neurology</p>
Key Words:	Glucose transporter type 1 deficiency syndrome (GLUT1-DS), Absence epilepsy, SLC2A1, Early onset absence epilepsy (EOAE)



Introduction

Glucose transporter 1 deficiency syndrome (GLUT1-DS) is a rare inborn error of metabolism (1:83.000) caused by impaired glucose transport through the blood-brain barrier due to mutations in the *SLC2A1* gene, which encodes the glucose transporter protein Type 1 (GLUT1). First described in 1991 by Di Vivo et al.¹, the classic phenotype was based on 2 patients presenting with epileptic encephalopathy characterized by infantile-onset refractory epilepsy, cognitive impairment, acquired microcephaly, and a complex movement disorder including spasticity, ataxia, and dystonia¹.

In recent years, a wide clinical spectrum has been described for GLUT1-DS, including sporadic paroxysmal exercise-induced dyskinesias², mixed movement disorder³ (dystonia, dysarthria, ataxia, chorea, dystonic tremor), intellectual disability, or epilepsy in different combinations. It has been reported to cause alternating hemiplegia, spastic paraparesis⁴, hemolytic anemia, migraine, and has even been described in asymptomatic patients⁵.

Diagnosis of GLUT1-DS is based on presence of a reduced ratio of cerebrospinal fluid to plasma glucose or the identification of a pathogenic variation in *SLC2A1*.

It is important to recognize GLUT1-DS, as initiation of a ketogenic diet can reduce the frequency of seizures, the severity of the movement disorder, and lead to improvements in cognitive functions such as alertness and concentration⁶.

Recently, GLUT1-DS has been identified as the cause of different types of epileptic syndromes, such as idiopathic generalized epilepsy including absences with some atypical features⁷.

The aim of our study was to analyze the presence of variants in *SLC2A1* in patients with

absences with atypical features

Materials and Methods

We recruited a cohort of 43 Spanish patients from several hospitals in Madrid (Spain); all patients presented one or more atypical features, including early-onset absence epilepsy (EOAE) with onset before 4 years of age, psychomotor delay or intellectual disability, additional seizure types (such as tonic-clonic or myoclonic seizures), refractory epilepsy (following administration of 2 appropriate antiepileptic treatments), associated movement disorder, first-degree relatives with absence epilepsy, or atypical EEG ictal discharges (slow or irregular).

Patients' past histories and results from laboratory testing were obtained by face-to-face interviews and by consulting their medical records. The information regarding clinical, developmental, imaging, and neurophysiology data were reviewed by two epilepsy specialists with experience in childhood epilepsy.

All participants or their relatives (in the case of minors) provided signed informed consent, and DNA samples were obtained from peripheral blood lymphocytes using standard procedures. The study was approved by the local ethics committee.

Molecular analysis of *SLC2A1* was performed by Sanger sequencing and multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) analysis (P138 probe mix; MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands).

Results

The average age of the 43 patients (53.5% female) was 12.4 years (range, 3–62, median, 9). The most frequent atypical associated characteristic was other associated epileptic

seizures (26/43, 62.8%) in the form of generalized tonic-clonic seizures in 20, myoclonic seizures in 13, partial seizures in 5, and atonic seizures in 3. Twenty-six patients (60.5%) needed more than 2 antiepileptic drugs to control their seizures. In 25 patients (58.1%), absence onset occurred before age 4, and nearly half (46.5%) presented psychomotor delay or intellectual disability of varying degrees. Thirteen patients (30.2%) presented movement disorder (tremor, 13; dystonia, 5; paroxysmal dyskinesia, 2), EEG abnormalities were discovered in 11 patients (25.6%) (4 were found to have slow spike-wave complexes (<3 Hz), and irregular spikes and waves were found in 6) (Table 1).

Sequencing of *SLC2A1* in our cohort led to identification of two point variants in the two above mentioned patients: one *de novo* splice-site variant (c.115-2G>A) and a reported heterozygous variant (c.847C>T, p.Gln283Ter, rs587784397). Parental DNA samples were not available in the latter case but the variant has been reported as a pathogenic variant. No copy number variation was found in any patient.

The 2 patients with GLUT1-DS presented with all atypical characteristics except for family history of absence seizures. Only 1 of the 2 patients was able to begin a ketogenic diet (3:1 ketogenic ratio). This patient experienced resolution of the tonic-clonic and absence seizures, though the myoclonic seizures persisted. The movement disorder improved partially, especially choreoathetosis (Figure 1). EEG findings were atypical in both, with the two patients exhibiting multifocal epileptiform patterns (spikes). In addition, 1 patient (an 11-month-old infant) had a slow spike-wave complex (2.5 Hz), and another (a 17-year-old male) had frontal spikes.

Discussion

1
2
3 GLUT1-DS is not a frequent cause of generalized epilepsy or absence seizures. In a
4
5 study conducted by Arsov et al.⁸, in 504 patients with idiopathic generalized epilepsy,
6
7 only 7 of them (1.4%) presented pathogenic variations in the *SLC2A1* gene. In contrast,
8
9 when the absences are associated with other symptoms, the probability of the epilepsy
10
11 being secondary to GLUT1-DS is greater. In our series, 2 patients (4.6%) had
12
13 GLUT1DS. Specifically, these were 2 of the 3 patients (66.6%) who had the highest
14
15 number of atypical features, presenting with all abnormal features except presence of
16
17 family history of absence seizures, and both had a variant in *SLC2A1*. In their recent
18
19 meta-analysis, Lebon et al.⁹ recommend performing genetic studies in search of
20
21 mutations in the *SLC2A1* in patients with EOAE in addition to abnormal developmental
22
23 or neurological features and other seizure types such as tonic-clonic or atypical EEG
24
25
26

27
28 One of the entities in which the relationship between GLUT1-DS and epilepsy has been
29
30 most intensively studied is that which occurs when onset of absences occurs before 4
31
32 years of age. It is generally considered that 5% to 10% of patients with EOAE present
33
34 GLUT1-DS¹⁰. Other authors claim that no such relationship is found when stringent
35
36 EEG criteria are applied and none of the patients included have atypical EEG (no 3-to-
37
38 4-Hz symmetrical pattern). Indeed, Agostinelli et al.¹¹ failed to find mutations in
39
40 *SLC2A1* in 84 patients with absences and onset of these seizures before age 3 years and
41
42 normal EEG readings. In our series, pathogenic variants in *SLC2A1* were found in only
43
44 2 of 25 patients (8%) with EOAE and these cases also had atypical EEG findings. It
45
46 appears that presence of slow-wave (<3 Hz) or irregular complexes is an attribute of
47
48 GLUT1-DS. In another study by Agostinelli et al.¹², only those patients with atypical
49
50 EEG findings presented mutations in the *SLC2A1* (4/77), while none of the cases with a
51
52 typical EEG revealed presence of the mutation (0/111).

53
54
55
56
57
58
59
60

Other characteristics or absences reported to be associated with GLUT1-DS are presence of movement disorders (especially paroxysmal exertion-induced dyskinesia), intellectual disability, other associated types of seizures (e.g. focal, myoclonic, tonic-clonic), or pharmaco-resistant seizures. Although GLUT1-DS has been associated with family history of absences¹³, our series contains no such cases.

Although onset of epilepsy occurs in the first few months of life, diagnosis is delayed in most cases. In a recent series of French patients¹⁴, the median age at diagnosis was 8 years and 5 months. This delay in diagnosis has serious prognostic implications, as the introduction of a ketogenic diet leads to increased control of symptoms such as epilepsy, neurological symptoms including ataxia, spasticity, and dystonia, and cognitive features like alertness, concentration, motivation (apparently there is no significant change in the intelligence quotient) For this reason, specific, early diagnosis and treatment are linked to increased quality of life and improved patient management¹⁵.

Despite the limitations introduced by the small sample size used in the present study and the fact that other variables such as microcephaly or response of seizures to a fasting state, our study shows that the greater the number of atypical patient characteristics, the greater the likelihood that these characteristics are secondary to GLUT1-DS.

References

- (1) , Trifiletti RR, Jacobson RI, Ronen GM, et al.. Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycorrhachia, seizures, and developmental delay. *N Engl J Med* 1991;325:70370-9.

- (2) Zorzi G, Castellotti B, Zibordi F, et al. Paroxysmal movement disorders in GLUT1 deficiency syndrome. *Neurology* 2008;71:146-148.
- (3) Friedman JR, Thiele EA, Wang D, et al. Atypical GLUT1 deficiency with prominent movement disorder responsive to ketogenic diet. *Mov Disord* 2006;21:241-245.
- (4) Weber YG, Kamm C, Suls A, et al. Paroxysmal choreoathetosis/spasticity (DYT9) is caused by a GLUT1 defect. *Neurology* 2011;77:959-964.
- (5) Suls A, Dedeken P, Goffin K, et al. Paroxysmal exercise-induced dyskinesia and epilepsy is due to mutations in SLC2A1, encoding the glucose transporter GLUT1. *Brain* 2008;131:1831-1844.
- (6) Fujii T, Ito Y, Takahashi S, et al. Outcome of ketogenic diets in GLUT1 deficiency syndrome in Japan: A nationwide survey. *Brain Dev* 2016;38:628-637.
- (7) Pong AW, Geary BR, Engelstad KM, et al. Glucose transporter type I deficiency syndrome: epilepsy phenotypes and outcomes. *Epilepsia* 2012;53:1503-1510.
- (8) Arsov T, Mullen SA, Rogers S, et al. Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies. *Ann Neurol* 2012;72:807-815.
- (9) Lebon S, Suarez P, Alija S, et al. When should clinicians search for GLUT1 deficiency syndrome in childhood generalized epilepsies?. *Eur J Paediatr Neurol* 2015;19:170-175.
- (10) Suls A, Mullen SA, Weber YG, et al. Early-onset absence epilepsy caused by mutations in the glucose transporter GLUT1. *Ann Neurol* 2009;66:415-419.
- (11) Agostinelli S1, Traverso M, Accorsi P, et al. Early-onset absence epilepsy: SLC2A1 gene analysis and treatment evolution. *Eur J Neurol*

2013;20:856-859.

(12) Agostinelli S, Accorsi P, Beccaria F, et al. Clinical dissection of early onset absence epilepsy in children and prognostic implications. *Epilepsia* 2013;54:1761-1770.

(13) Striano P, Weber YG, Tolia MR, et al. GLUT1 mutations are a rare cause of familial idiopathic generalized epilepsy. *Neurology* 2012;78:557-562.

(14) Hully M, Vuillaumier-Barrot S, Le Bizet C. From splitting GLUT1 deficiency syndromes to overlapping phenotypes.. *Eur J Med Genet* 2015;58:443-454.

(15) Fujii T, Ito Y, Takahashi S, et al. Outcome of ketogenic diets in GLUT1 deficiency syndrome in Japan: A nationwide survey. *Brain Dev* 2016;38:628-637.

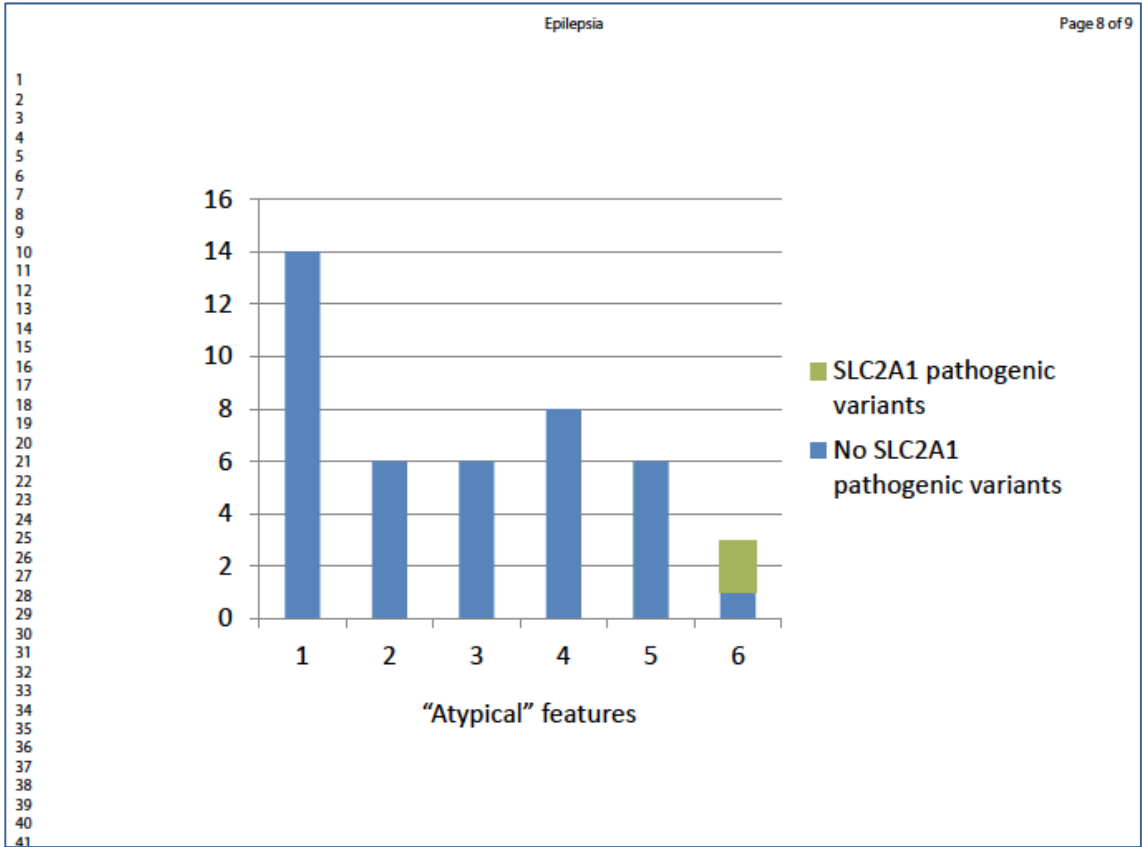
Table 1

Characteristics of patients with absence seizures

Early onset absence epilepsy (EOAE), psychomotor delay or intellectual disability (ID), additional seizure types (AS), refractory epilepsy (RE), associated movement disorder (MOV), first degree relatives with absence epilepsy (FDR) or atypical EEG ictal discharges (EEG).

Figure 1

Number of atypical characteristics in patients with absence seizures



Epilepsia

Page 9 of 9

EOAE	RPM	REF	OC	MOV	EEG	AF	Patients	SLC2A1 pathogenic variants
x							6	0/6
x		x					1	0/1
x			x				1	0/1
x	x		x				1	0/1
x		x	x				2	0/2
x	x	x	x				2	0/2
x	x		x	x			1	0/1
x	x		x			x	1	0/1
x	x	x	x	x			3	0/3
x	x	x	x		x		2	0/2
x	x		x	x	x		2	0/2
x	x	x	x	x	x		3	2/3
		x					4	0/4
		x	x				2	0/2
	x	x	x				2	0/2
	x	x	x		x		3	0/3
	x		x				1	0/1
				x			2	0/2
				x		x	1	0/1
			x	x	x		1	0/1
						x	2	0/2
							43	2/43

- Revista *Plos One*: PLoS One. 2017;12: e0188978.



RESEARCH ARTICLE

Molecular diagnosis of patients with epilepsy and developmental delay using a customized panel of epilepsy genes

Laura Ortega-Moreno^{1,2*}, Beatriz G. Giráldez^{1,2*}, Víctor Soto-Insuga³, Rebeca Losada-Del Pozo³, María Rodrigo-Moreno³, Cristina Alarcón-Morcillo^{1,2}, Gema Sánchez-Martín^{1,2}, Esther Díaz-Gómez^{1,2}, Rosa Guerrero-López^{1,2*}, José M. Serratosa^{1,2*}, Grupo Español de Genética de las Epilepsias de la Infancia (GEGEI)[†]

1 Neurology Lab and Epilepsy Unit, Department of Neurology, IIS- Fundación Jiménez Díaz, UAM, Madrid, Spain, **2** Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, Spain, **3** Department of Pediatrics, Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, UAM, Madrid, Spain

* These authors contributed equally to this work.

† Membership of the Grupo Español de Genética de las Epilepsias de la Infancia (GEGEI) is provided in the Acknowledgments.

* mserratosa@me.com (JMS); rquerrero@fjd.es (RGL)



OPEN ACCESS

Citation: Ortega-Moreno L, Giráldez BG, Soto-Insuga V, Losada-Del Pozo R, Rodrigo-Moreno M, Alarcón-Morcillo C, et al. (2017) Molecular diagnosis of patients with epilepsy and developmental delay using a customized panel of epilepsy genes. PLoS ONE 12(11): e0188978. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188978>

Editor: Emilio Russo, University of Catanzaro, ITALY

Received: May 5, 2017

Accepted: November 16, 2017

Published: November 30, 2017

Copyright: © 2017 Ortega-Moreno et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This work was supported by the Ministerio de Economía y Competitividad (SAF2010-18586 and SAF2013-48960-P) to GSM, LOM (www.mineco.gob.es); Fundación Conchita Rabago de Jiménez Díaz (www.fundacionconchitarabago.net) to LOM and Centro de Investigación Biomédica en Red de

Abstract

Pediatric epilepsies are a group of disorders with a broad phenotypic spectrum that are associated with great genetic heterogeneity, thus making sequential single-gene testing an impractical basis for diagnostic strategy. The advent of next-generation sequencing has increased the success rate of epilepsy diagnosis, and targeted resequencing using genetic panels is the most cost-effective choice. We report the results found in a group of 87 patients with epilepsy and developmental delay using targeted next generation sequencing (custom-designed Haloplex panel). Using this gene panel, we were able to identify disease-causing variants in 17 out of 87 (19.5%) analyzed patients, all found in known epilepsy-associated genes (*KCNQ2*, *CDKL5*, *STXBP1*, *SCN1A*, *PCDH19*, *POLG*, *SLC2A1*, *ARX*, *ALG13*, *CHD2*, *SYNGAP1*, and *GRIN1*). Twelve of 18 variants arose *de novo* and 6 were novel. The highest yield was found in patients with onset in the first years of life, especially in patients classified as having early-onset epileptic encephalopathy. Knowledge of the underlying genetic cause provides essential information on prognosis and could be used to avoid unnecessary studies, which may result in a greater diagnostic cost-effectiveness.

Introduction

Epilepsy is a common neurologic disorder in childhood, with a prevalence of 300–600 per 100,000. About 30% of children with epilepsy present behavioral or cognitive impairment [1]. Among the most severe forms of childhood epilepsy are the so-called epileptic encephalopathies (EEs), which include a number of heterogeneous early-onset clinical disorders characterized by refractory seizures, developmental delay, or regression associated with ongoing epileptic activity, and poor prognosis in the majority of the patients [2, 3]. Dravet, Ohtahara,

Enfermedades Raras (www.ciberes.es) to RGL. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

and West syndromes are some of the most common EEs [2]; however, many neonates and infants with EEs do not fit into any of the proposed epileptic syndromes [4].

With the advancement of technologies for genetic diagnosis, genetic defects have been increasingly recognised as causes of different types of pediatric epilepsies, and also seem to account for a significant number of EEs [5, 6]. Genes involved in ion channelopathies, neuronal transmission, brain development, or synaptic functions have been reported to be associated with EE [7]. To date, more than 500 genes have been linked to epilepsy, and several genes—including *STXBPI*, *ARX*, *SLC25A22*, *KCNQ2*, *CDKL5*, *SCN1A*, and *PCDH19*—have been found to be associated with EEs [8–11]. The genetic and phenotypic heterogeneity in pediatric epilepsies [12–20] coupled with the fact that very few cases are explained by mutations in the same gene [21] make sequential single-gene testing impractical. Genetic testing panels open new possibilities for the diagnosis of this type of epilepsies, especially those for which diagnosis is otherwise unclear [8, 22–27].

The aim of this study was to perform a comprehensive genetic analysis using next-generation sequencing (NGS) technology to analyze more than 80 genes previously associated with epilepsy in 87 patients with epilepsy and developmental delay.

Materials and methods

Patients

We selected 87 patients with epilepsy and developmental delay of unexplained origin referred to our laboratory for genetic study. Most patients had been previously studied in order to rule out a structural or metabolic etiology. Patients' medical histories and results from laboratory testing were obtained by face-to-face interview and by consulting medical records. When available, information regarding the patient's clinical, imaging, and neurophysiology data were reviewed by 2 epileptologists with experience in clinical epilepsy genetics, and phenotypes were classified into known electroclinical syndromes. When there was insufficient information, or the phenotype did not correspond to any recognizable syndrome, patients were included in the unclassified group. Before performing the genetic panel, 41 (47.1%) patients had been studied for mutations in selected epilepsy genes with conventional techniques (see Table 1).

Informed parental consent for genetic testing was obtained in all cases. DNA samples were extracted from peripheral blood lymphocytes using standard procedures. The study was approved by the local ethics committee (Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz).

Epilepsy panel

We designed 2 panels using Agilent's SureDesign tool (www.agilent.com/genomics/suredesign) including genes that were known to be involved in epilepsy as a phenotypic feature according to the Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>). These genetic panels cover exonic regions as well as exon-intron boundaries of the selected genes.

We designed a first panel comprising 83 genes (S1 Table) to screen a cohort of 44 patients. A second panel was designed with 106 genes (S2 Table) to screen 43 more patients. This second panel included new genes that have been more recently associated with epilepsy, excluding some genes contained in the first panel.

Theoretically, panel 1 included 17612 amplicons covering 873721 Mbp (99.42% of the region of interest), and panel 2 included 19597 amplicons, 1105 Mbp and 99.78%. Certain regions did not achieve a satisfying coverage and needed resequencing by Sanger.

Table 1. Mutations identified by a multi-gene panel of epilepsy.

ID	Sex	Phenotype	Age at seizure onset	Previous genetic analysis	Gene/Transcript	Variant	dbSNP147 / MAF	Inheritance	PolyPhen2 / SIFT (score)	GERP (score)	ExAC (Allele frequency)
1	F	EOEE	2 days	PMPD STXBP1	KCNQ2 / NM_004518.5	c.602G>A / p. Arg201His	Reported by Carvillat et al., 2013	IVF	0.979 / 0	3.98	Not present
2	F	EOEE	NA	None				De novo			
3	M	EOEE	17 hours	None		c.601C>T / p. Arg201Cys	rs796032623 / NA	IVF	0.979 / 0	2.84	Not present
4	M	Unclassified EE	24 hours	None		c.803T>C / p. Leu268Pro	rs884321708 / NA	De novo	0.053 / 0.03	3.38	Not present
5	F	EOEE	20 days	KCNQ2 PBR12 SCN2A	STXBP1 / NM_001032221.3	c.1216C>T / p. Arg406Cys	rs796033367 / NA	De novo	0.923 / 0	5.61	Not present
6	F	NLES	5 months	ARX CDKL5 SCN1A	ALG13 / NM_001039210.4	c.320A>G / p. Asn107Ser	rs398122394 / NA	De novo	0.969 / 0	2.13	Not present
7	M	Unclassified EE	1 months	KCNQ2	CDKL5 / NM_001037343.1	c.52_53delT / p. Val19CysLeu3	Not reported	De novo	NA	5.56	Not present
8	F	Unclassified EE	6 months	None		c.377G>A / p. Cys126Tyr	Reported by Fehr et al., 2015	De novo	0.998 / 0	5.98	Not present
9	F	Unclassified EE	1 months	None		c.533G>A / p. Arg178Gln	rs267606715 / NA	De novo	1 / 0	5.60	Not present
10	F	SMEI	6 months	None	PCDH19 / NM_001105243.1	c.698A>G / p. Asp233Gly	Not reported	Paternal inherited	0.999 / 0	6.08	Not present
11	F	Unclassified EE	4 months	PCDH19	SCN1A / NM_001165963.1	c.602-1G>A	rs794728827 / NA	De novo	NA	5.24	Not present
12	M	Unclassified EE	6 months	SLC2A1 SYNGAP1	CHD2 / NM_001042572.2	c.2317G>A / p. Glu773Lys	Not reported	Parents not available	0.019 / 0.28	5.18	Not present
13	F	Unclassified EE	2 months	SLC2A1	SLC2A1 / NM_008516.2	c.115-2A>G	Not reported	De novo	NA	5.24	Not present
14	M	Unclassified EE	18 months	SCN1A SLC2A1	SYNGAP1 / NM_001130066.1	c.303_304delG / p. Lys114GluLeu1ed8	Not reported	De novo	NA	-2.27	Not present
15	M	EOEE	1 months	None	ARX / NM_139058.2	c.196G>A / p.Gly66Ser	rs1057518564 / NA	De novo	0.788 / 0.21	4.90	Not present
16	M	Unclassified EE	3 years	SRRX2	POLG / NM_001126131.1	c.158_159dupGCA / p. Gln52dup	rs41550117 / NA	Maternally inherited	NA	0.00	0.01921
						c.2492A>G / p. Tyr831Cys	rs41549716 / 0.02	Parents not available	0.948 / 0.07	1.47	0.006277
17	F	Unclassified EE	6 months	CDKL5 FOXG1	GRIN1 / NM_000832.6	c.2504C>A / p. Ala835Asp	Not reported	De novo	0.933 / 0	3.97	Not present

F: female, M: male, EOEE: early-onset epileptic encephalopathy, EE: epileptic encephalopathy, NLES: Non-lesional epileptic spasms, SMEI: severe myoclonic epilepsy of infancy, dbSNP: single nucleotide polymorphism database, MAF: minor allele frequency, NA: not available, IVF: in vitro fertilisation, PolyPhen2: polymorphism phenotyping version 2, SIFT: sorting intolerant from tolerant, GERP: genomic evolutionary rate profiling, ExAC: exome aggregation consortium.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188978.t001>

Target enrichment method

We used customized in-solution target enrichment followed by NGS to screen for variants in our 2 cohorts of patients. A library of all coding exons and intron-exon boundaries was prepared using a HaloPlex target enrichment kit (Agilent, Santa Clara, USA) following the manufacturer's instructions. Briefly, we fragmented the human genome (the samples were digested by 16 different restriction enzymes to create a library of gDNA restriction fragments) and enriched for the coding regions of genes by using complementary highly specific biotinylated probes. HaloPlex probes are designed to hybridise selectively to fragments originating from target regions of the genome, and to direct circularisation of the targeted DNA fragments. Hybridized probes were captured with magnetic beads and target fragments were ligated to create circular DNA molecules. Subsequently, libraries were amplified by PCR, introducing unique index sequences that allow all pools to be sequenced together. Sequencing was performed using the NGS MiSeq Illumina sequencer (Illumina, Inc.). As an acceptance threshold value we selected a Q-score of 30, corresponding to a 1:1000 error rate.

Bioinformatics tools

Fastq files from the sequencer were redirected to a custom pipeline for HaloPlex™ Target Enrichment System on the DNA nexus platform and/or to Agilent Surecall software.

Briefly, reads were aligned to the human reference genome (GRCh37/hg19) (<http://hgdownload.cse.ucsc.edu/>) with Burrows-Wheeler Aligner (BWA) [28] and variants were called using at least 2 of the 3 following variant callers: Genome Analysis Toolkit (GATK) [29–31], Freebayes [32] (both within the DNA nexus platform), and Base Alignment Quality (BAQ) Single Nucleotide Polymorphism (SNP) caller (within SureCall tool).

Variants passing quality filters were annotated separately against NCBI RefGene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) and ENSEMBL Variant Effect Predictor ver.72 (<http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep>).

Prioritization of candidate genes

Variants were further filtered out to exclude all variants classified as synonymous, non-pathogenic, or with a frequency above 0.01 in control populations (data from dbSNP database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>), 1000 Genomes Project (<http://1000genomes.org>), Exome Sequencing Project (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>), and Exome Aggregation Consortium (ExAC) (<http://exac.broadinstitute.org/>)). We attempted to estimate the putative pathogenic effect of non-reported suspected variants with conventional and freely available online tools, such as Polymorphism Phenotyping version 2 (Polyphen2) (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT) (<http://sift.bii.a-star.edu.sg/>), and HSF (<http://www.umd.be/HSF/>) [33–35]. PolyPhen2 scores of less than 0.15 are predicted to be benign, scores from 0.15 to 0.85 as possibly damaging, and scores greater than 0.85 are interpreted as probably damaging. SIFT scores of less than 0.05 are predicted to be deleterious and those greater than or equal to 0.05 are predicted to be tolerated. Also, we used Exomiser (<http://www.sanger.ac.uk/resources/databases/exomiser/>) [36], an online tool that functionally annotates and prioritises mutated genes using variant frequency, predicted pathogenicity, inheritance pattern, and model organism phenotype data as criteria. Scores are based on Mutation Taster [35], SIFT [37], Polyphen2 [34], and GERP [38]. GERP scores ranged from -12.3 to 6.17, with 6.17 being the most highly conserved.

Finally, the selected variants were evaluated within the context of their individual phenotype and clinical data. Putatively causative mutations were validated by conventional Sanger sequencing and tested by segregation analysis when possible.

Criteria for pathogenicity

We classified a novel variant as pathogenic according to the international guidelines of the American College of Medical Genetics (ACMG) Laboratory Practice Committee Working Group [39].

Results

We recruited, studied, and classified 87 patients with epilepsy mostly with an onset in the first year of life (68/87, 78.2%), and with developmental delay. Clinical diagnoses are summarized in Table 2. A large proportion of patients were unable to be classified, mainly due to incomplete clinical data (56/87). The patients were analyzed using a targeted next-generation custom gene panel. A mean coverage of 263× was obtained per sample (minimum 83× and maximum 443×), with 88% of bases covered at more than 30×. The percentage of read mapped to the reference genome was between 84.8% and 91.8%, with a mean of 88.3%.

After a stringent filtering procedure was carried out, a total of 18 presumed disease-causing variants in 12 genes were detected, including *KCNQ2* (n = 4), *CDKL5* (n = 3), *SCN1A* (n = 1), *PCDH19* (n = 1), *STXBPI* (n = 1), *SLC2A1* (n = 1), *ARX* (n = 1), *ALG13* (n = 1), *SYNGAP1* (n = 1), *GRIN1* (n = 1), *CHD2* (n = 1), and *POLG* (n = 2). We identified 3 (16.7%) frame-shift insertion-deletion, 2 (11.1%) putative splice site, and 13 (72.2%) missense variants, of which 12 (66.7%) arose *de novo* and 6 (33.3%) were novel.

Genomic evolutionary rate profiling (GERP) score showed that these variants affected highly conserved amino acids in mammals and were reported to be deleterious in the prediction programs used. In total, we were able to identify 18 disease-causing variants in 17 patients.

Of the 17/87 (19.5%) patients with positive findings, 10/44 (22.7%) had unclassified EEs, 5/9 (55.6%) had EOEE, 1/1 (100%) was diagnosed with severe myoclonic epilepsy of infancy (SMEI), and 1/12 (8.3%) was included in NLES group.

An overview of all detected variants is shown in Table 1.

It is worth noting that the positive cases in our panel had previously undergone different clinical and genetic tests, including karyotyping (41.2%, (7/17)), magnetic resonance imaging (MRI) (100%, (17/17)), metabolic screening (70.6%, (12/17)), mitochondrial DNA screening (23.5% (4/17)), comparative genomic hybridisation (CGH) array test (5.9% (1/17)), and sequential single-gene analysis (1–6 genes, see Table 1) (58.8% (10/17)).

Four point variants in *KCNQ2* were identified in 3 patients with EOEE and one patient with unclassified EE: c.602G>A (patients 1 and 2), c.601C>T (patient 3), and c.803T>C

Table 2. Clinical diagnosis in 87 patients with epilepsy and developmental delay.

Clinical diagnoses	n	%
Non-lesional epileptic spasms (NLES)	12	13.8%
Early-onset epileptic encephalopathy (EOEE)*	9	10.3%
Lennox-Gastaut syndrome (LGS)	6	6.9%
Landau-Kleffner syndrome (LKS)	1	1.1%
Severe myoclonic epilepsy in infancy (SMEI)	1	1.1%
Myoclonic-astatic epilepsy (MAE)	1	1.1%
Malignant migrating partial seizures of infancy (MMP SI)	1	1.1%
Unclassified epileptic syndromes		
Epileptic encephalopathies (EEs)	44	50.6%
Generalized epilepsies	8	9.2%
Focal epilepsies	4	4.6%

*Early-onset epileptic encephalopathy includes Ohtahara syndrome (OS) and early myoclonic encephalopathy (EME).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188978.t002>

(patient 4). Two variants arose *de novo* (see Table 1). Parental DNA samples (either parent) were not available for patient 3, or no paternal DNA sample was available for patient 1 (both were born following *in vitro* fertilisation (IVF)).

Interestingly, a variant affecting the same codon as in patients 1 and 2 has been reported, though with a different base substitution (Arg>Cys) [40].

The variants c.601C>T and c.602G>A are located in the transmembrane S4 domain, and the c.803T>C variant is located in the pore-forming H5 domain of the protein. All 3 variants are predicted to be pathogenic.

We also detected a previously reported *STXBP1* heterozygous variant (c.1216C>T, rs796053367) in a patient diagnosed as having EOE. This causative variant is located at exon 14, leading to the substitution of a conserved residue, R406, in domain 3b of *STXBP1*, and was not found in her parents [41, 42]. All patients described above had onset in the first 3 weeks of life and the electroencephalogram (EEG) showed a burst-suppression pattern.

Three *de novo* *CDKL5* variants (c.52_53insT, c.377G>A, and rs267606715) presumed to be disease-causing were identified in 3 patients belonging to the unclassified EE group (see Table 1). The variants c.52_53insT and c.377G>A are located in the catalytic domain of the protein. Furthermore, the c.52_53insT variant affects the ATP-binding site and produces a truncated protein [43].

We have also identified pathogenic variants in *ALG13*, *GRIN1*, *ARX*, *SCN1A*, *PCDH19*, *SLC2A1*, *CHD2*, *SYNGAP1*, and *POLG* (see Table 1).

The variant found in *ALG13* (c.320A>G) in a patient with NLES who progressed to Lennox-Gastaut syndrome (LGS) has been previously reported (rs398122394) as pathogenic and is located in the region where glycosyltransferase activity resides.

Two causative *de novo* variants in *GRIN1* (c.2504C>A, p.Ala835Asp) and *ARX* (c.196G>A, p.Gly66Ser, rs1057518564) were found in a patient with an unclassified EE (patient 17) and in another diagnosed as EOE (patient 15), respectively. The *GRIN1* variant affects the calmodulin-binding domain, a highly conserved domain of the N-methyl-D-aspartate (NMDA)-receptor 1 [44]. Variants in this domain disturb interactions with intracellular proteins, which may impair receptor function [45].

We identified a *de novo* *SCN1A* splicing variant (c.602+1G>A, rs794726827) in a patient with unclassified EE. This pathogenic variant affects the splice-donor site in intron 4 and is located in the S3 transmembrane segment of domain I of the *SCN1A* protein. Human Splicing Finder (HSF) does not predict a cryptic splice-site activation; therefore, this variant may lead to skipping of exon 4, resulting in an affected channel. We could not confirm the predicted consequences because RNA samples were not available.

A paternally inherited *PCDH19* variant (c.698A>G, p.Asp233Gly) was detected in one female diagnosed with SMEI. This novel variant is located in the first exon, which codifies the extracellular domain of the protein. The patient did not present any autistic features and her father was asymptomatic, contrasting with data reported by other authors [46, 47].

Patient 13 showed a heterozygous splice-site pathogenic variant (c.115-2A>G) in *SLC2A1*, which was confirmed as *de novo*. This variant affects the splice-acceptor site of the third exon but, according to the HSF, a cryptic splice site is activated. It causes a variation in the length of the exon, eliminating 9 nucleotides, which results in a loss of 3 amino acids in the protein. We could not test the functional consequence of this splice-site variant because the RNA samples were not available.

A G>A transition in the nucleotide 2317 in *CHD2*, which produces a Glu>Lys substitution in position 337, was found in patient 12, who had an unclassified EE. This change is located in the first chromodomain of the protein, likely affecting the remodeling of chromatin.

A novel disease-causing variant in *SYNGAP1* (c.333_334insG, p.Lys114GlnfsTer38) was found in a patient diagnosed as unclassified EE. This variant was not found in the parents. The variant p.Lys114GlnfsTer38 is located in the pleckstrin homology domain in the N-terminal segment of the protein, and generates a truncated protein.

Finally, we identified 2 reported pathogenic variants in *POLG* (c.156_158dupGCA, p.Gln52dup; c.2492A>G, p.Tyr831Cys) in a patient included as an unclassified EE. The first variant was inherited from his mother, though the heritability of the second mutation could not be confirmed. The patient presented a late-onset unclassified EE with posterior electrical and neuroimaging abnormalities compatible with those previously described in patients harboring variants in *POLG*.

Discussion

NGS panels are now used widely in the clinical setting to identify genetic causes of epilepsy, replacing the traditional gene-by-gene approach. The genetic heterogeneity and the phenotypic overlap in severe epilepsies beginning in infancy and early childhood make multigene panel analysis a useful diagnostic tool.

Results from recent large studies incorporating NGS of patients with EE reveal that up to 30% of cases can be conclusively resolved with current technologies [48].

In this study, we describe the development of a Haloplex-based NGS assay in 87 patients with epilepsy and developmental delay. Applying this gene panel analysis, we were able to identify deleterious variants in 19.5% patients (17 of 87). Our results are in accordance with those previously reported by other authors, with diagnostic yields ranging between 10% and 48.5% [8, 23, 26, 27, 49–55]. Recent data show that *de novo* variants play an important role in EEs [56–58]. In our study, 12 out of 18 (66.7%) pathogenic variants were shown to be *de novo*.

We identified positive findings in most known prominent epilepsy genes such as *KCNQ2* [59], *CDKL5* [60], *STXBP1* [61], *SCN1A* [62, 63], *PCDH19* [64], *POLG* [65], *SLC2A1* [66], and *ARX* [67] and in others more recently associated with EE such as *ALG13* [56], *CHD2* [68], *SYNGAP1* [69], and *GRIN1* [70].

All of these genes are well established for severe pediatric epilepsies. We found a causative variant in 10 of 44 patients diagnosed with unclassified EE, the majority (8 of 10) with seizure onset in the first years of life, and 5 of 9 classified as EOOE. The overall positive rates were 14.3% and 55.6% in these groups of patients, respectively [53, 71, 72].

As mentioned above, the positive findings were related to genes well established as being causative of severe epilepsies beginning in infancy and early childhood and are consistent with the phenotypes of our patients, although the genotype could have been unsuspected.

In our panel analysis, we were unable to detect causative variants in 70 out of the 87 patients belonging to the NLES group, LGS, Landau-Kleffner syndrome (LKS), myoclonic-astatic epilepsy (MAE), and malignant migrating partial seizures of infancy (MMPSI) groups categorized as EEs, and in groups consisting of unclassified generalized and focal epilepsies. There are several reasons for these negative results. First, the patients were recruited for research purposes. Subsequent clinical and genetic studies identified the etiology in 12 cases: 9 patients showed structural brain abnormalities on MRI scan, 2 individuals carried a mitochondrial pathogenic variant, and 1 patient harboured a heterozygous deletion in *PCDH19* that was not detected in the panel. The finding of a lesion, previously not detected, is not infrequent in the pediatric population mostly because of the difficulty to identify focal cortical dysplasia in late infancy and early childhood but also due to the increasing use of higher field MRI. Second, as we did not have detailed phenotypic data for 20 patients and many of these patients were studied at early stages of the disease, the final diagnosis may have been modified (in fact, during follow-

up 1 patient was finally diagnosed with Jeavons syndrome). Some of these patients were recruited a substantial amount of time ago and it is likely that other clinical or genetic tests could shed light on the underlying etiology (e.g. a CGH-array in children with epilepsy associated to ID with/without dysmorphic features). Finally, the absence of any presumed disease-causing variant in 37 patients with intensive follow-up and without relevant clinical changes was probably due to the fact that the causative gene was not present in our design. On the other hand, it should be noted that the findings in the negative cases included in epileptic disorders with a low diagnostic yield are in accordance with data reported by other authors [8, 17, 23, 25, 49–54].

Our study confirms the last published findings reported by other authors [26, 53] regarding the diagnostic yield of genetic testing in patients with severe pediatric epilepsies (especially in patients with early-onset epileptic encephalopathies). Additionally, considering the high proportion of patients with unclassified epilepsies in our series, the results support the use of a multigene epilepsy panel for a hypothesis-free diagnostic approach. Despite the fact that the clinical presentations of the epileptic disorders frequently overlap and even when phenotypic data are scarce, this type of approach, which includes the most relevant epilepsy-associated genes, offers rapid testing with a good diagnostic yield.

In conclusion, our HaloPlex design demonstrates the utility of this gene panel approach to identify the cause of cases with some type of genetic epilepsy in infancy. The early identification of the underlying causative genetic alteration using NGS approach will provide prognostic information, influence therapeutic decisions and lead to the design of new drugs targeted to gene-specific defects [9, 10, 73, 74].

Supporting information

S1 Table. Genes in the first panel of epilepsy.
(DOC)

S2 Table. Genes in the second panel of epilepsy.
(DOC)

Acknowledgments

We gratefully acknowledge the patients and their families for participating in the research. We wish to thank Oliver Shaw (IIS-Fundación Jiménez Díaz) for revising the text for English usage, flow and style.

[†]Grupo Español de Genética de las Epilepsias de la Infancia (GEGEDI):

Gustavo Lorenzo¹, Juan José García-Peñas², M Luz Ruiz-Falcó², M Angeles Pérez-Jiménez², Verónica Cantarin³, Antonio Gil-Nagel⁴, Rafael Toledano⁵, Asunción García-Pérez⁴, Alfonso Verdú⁶, M Carmen Carrascosa⁶, Rosa Vivanco⁷, Gemma Aznar⁸, Judith Armstrong⁹, Loreto Martorell⁹, Carmen Fons⁹, Angels Garcia-Cazorla⁹, Gema Arriola¹⁰, María Vázquez¹¹, Mar García-Romero¹², Ana Pérez-Villena¹³.

¹Pediatric Service, Hospital Ramón y Cajal-IRYCIS, Madrid, Spain.

²Child Neurology Unit, Department of Pediatrics, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain.

³Epilepsy Unit, Department of Neurology, Hospital Ruber Internacional, Madrid, Spain.

⁴Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Alcorcón, Madrid, Spain.

⁵Neuropediatric Unit, Hospital Virgen de la Salud, Toledo, Spain.

⁶Neuropediatric Unit, Complejo Universitario Hospitalario de Albacete, Albacete, Spain.

⁷Department of Neurology, Neurovascular Research Group (IMIM), Hospital del Mar and Autònoma University of Barcelona, Barcelona, Spain.

⁸Pediatric Service, Hospital del Mar and Autònoma University of Barcelona, Barcelona, Spain.

⁹Department of Child Neurology, Gastroenterology Pathology and Clinical Biochemistry Unit, Hospital Sant Joan de Déu and CIBERER, Barcelona, Spain.

¹⁰Neuropediatric Department, Hospital Universitario de Guadalajara, Guadalajara, Spain.

¹¹Department of Neuropaediatrics, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain.

¹²Pediatric Neurology Unit, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain.

¹³Department of Neuropaediatrics, Hospital La Moraleja, Madrid, Spain.

Author Contributions

Conceptualization: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Data curation: Laura Ortega-Moreno, Beatriz G. Giráldez, Víctor Soto-Insuga, Rebeca Losada-Del Pozo, María Rodrigo-Moreno, Cristina Alarcón-Morcillo, Esther Díaz-Gómez, Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Formal analysis: Laura Ortega-Moreno, Beatriz G. Giráldez, Víctor Soto-Insuga, Rebeca Losada-Del Pozo, María Rodrigo-Moreno, Cristina Alarcón-Morcillo, Gema Sánchez-Martín, Esther Díaz-Gómez, Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Funding acquisition: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Investigation: Laura Ortega-Moreno, Beatriz G. Giráldez, Víctor Soto-Insuga, Rebeca Losada-Del Pozo, María Rodrigo-Moreno, Cristina Alarcón-Morcillo, Gema Sánchez-Martín, Esther Díaz-Gómez, Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Methodology: Laura Ortega-Moreno, Beatriz G. Giráldez, Víctor Soto-Insuga, Rebeca Losada-Del Pozo, María Rodrigo-Moreno, Cristina Alarcón-Morcillo, Gema Sánchez-Martín, Esther Díaz-Gómez, Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Project administration: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Resources: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Supervision: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Validation: Laura Ortega-Moreno, Beatriz G. Giráldez, Víctor Soto-Insuga, Rebeca Losada-Del Pozo, María Rodrigo-Moreno, Cristina Alarcón-Morcillo, Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Visualization: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Writing – original draft: Laura Ortega-Moreno, Beatriz G. Giráldez, Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

Writing – review & editing: Rosa Guerrero-López, José M. Serratosa.

References

1. Tuchman R, Moshe SL, Rapin I. Convulsing toward the pathophysiology of autism. *Brain & development*. 2009; 31(2):95–103. Epub 2008/11/14.
2. Dulac O. Epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2001; 42 Suppl 3:23–6. Epub 2001/08/25.
3. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on

- Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*. 2010; 51(4):676–85. Epub 2010/03/04. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x> PMID: 20196795
4. Holland KD, Hallinan BE. What causes epileptic encephalopathy in infancy?: the answer may lie in our genes. *Neurology*. 2010; 75(13):1132–3. Epub 2010/09/30. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31819bc97> PMID: 20876466
 5. Gursoy S, Ercal D. Diagnostic Approach to Genetic Causes of Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Journal of child neurology*. 2016; 31(4):523–32. Epub 2015/08/15. <https://doi.org/10.1177/0883073815599262> PMID: 26271793
 6. Thomas RH, Berkovic SF. The hidden genetics of epilepsy—a clinically important new paradigm. *Nature reviews Neurology*. 2014; 10(5):289–92. Epub 2014/04/16. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.62> PMID: 24733163
 7. Mastrangelo M, Leuzzi V. Genes of early-onset epileptic encephalopathies: from genotype to phenotype. *Pediatr Neurol*. 2012; 46(1):24–31. Epub 2011/12/27. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2011.11.003> PMID: 22196487
 8. Lemke JR, Rlesch E, Scheurenbrand T, Schubach M, Wilhelm C, Steiner I, et al. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*. 2012; 53(8):1387–98. Epub 2012/05/23. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03516.x> PMID: 22612257
 9. Orsini A, Zari F, Striano P. Recent advances in epilepsy genetics. *Neuroscience letters*. 2017. Epub 2017/05/14.
 10. Weber YG, Biskup S, Hebig KL, Von Spiczak S, Lerche H. The role of genetic testing in epilepsy diagnosis and management. Expert review of molecular diagnostics. 2017; 17(8):739–50. Epub 2017/05/27. <https://doi.org/10.1080/14737175.2017.1336598> PMID: 28548558
 11. Wang J, Lin ZJ, Liu L, Xu HQ, Shi YW, Yi YH, et al. Epilepsy-associated genes. *Seizure*. 2017; 44:11–20. Epub 2016/12/23. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.11.030> PMID: 28007376
 12. Hildebrand MS, Dahl HH, Damiano JA, Smith RJ, Scheffer IE, Berkovic SF. Recent advances in the molecular genetics of epilepsy. *Journal of medical genetics*. 2013; 50(5):271–9. Epub 2013/03/08. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2012-101448> PMID: 23468209
 13. Hirose S, Scheffer IE, Marini C, De Jonghe P, Andermann E, Goldman AM, et al. SCN1A testing for epilepsy: application in clinical practice. *Epilepsia*. 2013; 54(5):946–52. Epub 2013/04/17. <https://doi.org/10.1111/epi.12168> PMID: 23586701
 14. Pong AW, Pal DK, Chung WK. Developments in molecular genetic diagnostics: an update for the pediatric epilepsy specialist. *Pediatric neurology*. 2011; 44(5):317–27. Epub 2011/04/13. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2011.01.017> PMID: 21481738
 15. Ottman R, Hirose S, Jain S, Lerche H, Lopes-Cendes I, Noebels JL, et al. Genetic testing in the epilepsies—report of the ILAE Genetics Commission. *Epilepsia*. 2010; 51(4):655–70. Epub 2010/01/27. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02429.x> PMID: 20100225
 16. Veeramah KR, Johnstone L, Karfelt TM, Wolf D, Sprisler R, Salogiannis J, et al. Exome sequencing reveals new causal mutations in children with epileptic encephalopathies. *Epilepsia*. 2013; 54(7):1270–81. Epub 2013/05/08. <https://doi.org/10.1111/epi.12201> PMID: 23647072
 17. Dimassi S, Labatne A, Vile D, Calender A, Mignot C, Boutry-Kryza N, et al. Whole-exome sequencing improves the diagnosis yield in sporadic infantile spasm syndrome. *Clinical genetics*. 2016; 89(2):199–204. Epub 2015/07/04. <https://doi.org/10.1111/coge.12636> PMID: 26138355
 18. Epi4K Consortium. Epi4K: gene discovery in 4,000 genomes. *Epilepsia*. 2012; 53(8):1457–67. Epub 2012/05/31. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03511.x> PMID: 22642626
 19. Poduri A, Sheldley BR, Shostak S, Ottman R. Genetic testing in the epilepsies—developments and dilemmas. *Nature reviews Neurology*. 2014; 10(5):293–9. Epub 2014/04/16. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.60> PMID: 24733164
 20. Scheffer IE. Genetic testing in epilepsy: what should you be doing? *Epilepsy currents / American Epilepsy Society*. 2011; 11(4):107–11. Epub 2011/08/13.
 21. Michaud JL, Lachance M, Hamdan FF, Carmant L, Lottie A, Diadori P, et al. The genetic landscape of infantile spasms. *Human molecular genetics*. 2014; 23(18):4846–58. Epub 2014/05/02. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu199> PMID: 24781210
 22. Martin HC, Kim GE, Pagnamenta AT, Muskamy Y, Carvill GL, Meyer E, et al. Clinical whole-genome sequencing in severe early-onset epilepsy reveals new genes and improves molecular diagnosis. *Human molecular genetics*. 2014; 23(12):3200–11. Epub 2014/01/28. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu030> PMID: 24463883
 23. Della Mina E, Coccone R, Bruscia F, Bayindir B, Limongelli I, Veto A, et al. Improving molecular diagnosis in epilepsy by a dedicated high-throughput sequencing platform. *European journal of human*

- genetics. *EJHG*. 2015; 23(3):354–62. Epub 2014/05/23. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2014.92> PMID: 24848745
24. Kwong AK, Ho AC, Fung CW, Wong VC. Analysis of mutations in 7 genes associated with neuronal excitability and synaptic transmission in a cohort of children with non-syndromic infantile epileptic encephalopathy. *PLoS one*. 2015; 10(5):e0126446. Epub 2015/05/08. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126446> PMID: 25951140
 25. Coll M, Allegue C, Parienti S, Mates J, Del Olmo B, Campuzano O, et al. Genetic investigation of sudden unexpected death in epilepsy cohort by panel target resequencing. *International journal of legal medicine*. 2016; 130(2):331–9. Epub 2015/10/02. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1269-0> PMID: 26423924
 26. Møller RS, Larsen LH, Johannessen KM, Talvik I, Talvik T, Vaher U, et al. Gene Panel Testing in Epileptic Encephalopathies and Familial Epilepsies. *Molecular syndromology*. 2016; 7(4):210–9. Epub 2016/10/27. <https://doi.org/10.1159/000448369> PMID: 27781031
 27. Parfitt E, Marini C, Mei D, Galuppi A, Cellini E, Pucatti D, et al. Diagnostic Targeted Resequencing in 349 Patients with Drug-Resistant Pediatric Epilepsies Identifies Causative Mutations in 30 Different Genes. *Human mutation*. 2016. Epub 2016/11/20.
 28. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009; 25(14):1754–60. Epub 2009/05/20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324> PMID: 19451168
 29. McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome research*. 2010; 20(9):1297–303. Epub 2010/07/21. <https://doi.org/10.1101/gr.107524.110> PMID: 20644199
 30. DePristo MA, Banks E, Poplin R, Garimella KV, Maguire JR, Hartl C, et al. A framework for variation discovery and genotyping using next-generation DNA sequencing data. *Nature genetics*. 2011; 43(5):491–8. Epub 2011/04/12. <https://doi.org/10.1038/ng.806> PMID: 21478899
 31. Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, Poplin R, Del Angel G, Levy-Moonshine A, et al. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Current protocols in bioinformatics / editorial board, Andreas D Baxevanis [et al]*. 2013; 43:11.011–33. Epub 2014/11/29.
 32. Garrison E, Marth G. Haplotype-based variant detection from short-read sequencing. Preprint at arXiv:12073907v2 [q-bio.GN]. 2012.
 33. Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, Collod-Beroud G, Claustres M, Beroud C. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic acids research*. 2009; 37(9):e67. Epub 2009/04/03. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp215> PMID: 19339519
 34. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature methods*. 2010; 7(4):248–9. Epub 2010/04/01. <https://doi.org/10.1038/nmeth0410-248> PMID: 20364512
 35. Schwarz JM, Rodelsperger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nature methods*. 2010; 7(8):575–6. Epub 2010/08/03. <https://doi.org/10.1038/nmeth0810-575> PMID: 20678075
 36. Robinson PN, Kohler S, Oelrich A, Wang K, Mungall CJ, Lewis SE, et al. Improved exome prioritization of disease genes through cross-species phenotype comparison. *Genome research*. 2014; 24(2):340–8. Epub 2013/10/29. <https://doi.org/10.1101/gr.160325.113> PMID: 24162188
 37. Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nature protocols*. 2009; 4(7):1073–81. Epub 2009/06/30. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.86> PMID: 19561590
 38. Cooper GM, Stone EA, Asimenos G, Green ED, Batzoglou S, Sidow A. Distribution and intensity of constraint in mammalian genomic sequence. *Genome research*. 2005; 15(7):901–13. Epub 2005/06/21. <https://doi.org/10.1101/gr.3577405> PMID: 15965027
 39. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*. 2015; 17(5):405–24. Epub 2015/03/06.
 40. Weckhuysen S, Ivanovic V, Hendrickx R, Van Coster R, Hjalgrim H, Møller RS, et al. Extending the KCNQ2 encephalopathy spectrum: clinical and neuroimaging findings in 17 patients. *Neurology*. 2013; 81(19):1697–703. Epub 2013/10/11. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000435296.72400.a1> PMID: 24107868
 41. Romaniello R, Saettini F, Parzef E, Arigoni F, Bassi MT, Borgatti R. A de-novo STXBP1 gene mutation in a patient showing the Rett syndrome phenotype. *Neuroreport*. 2015; 26(5):254–7. Epub 2015/02/26. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000337> PMID: 25714420

42. Saito H, Kato M, Okada I, Ori KE, Higuchi T, Hoshino H, et al. STXBP1 mutations in early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern. *Epilepsia*. 2010; 51(12):2397–405. Epub 2010/10/05. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02728.x> PMID: 20867364
43. Bahi-Buisson N, Villeneuve N, Caletta E, Jacquette A, Maurey H, Matthijs G, et al. Recurrent mutations in the CDKL5 gene: genotype-phenotype relationships. *American journal of medical genetics Part A*. 2012; 158A(7):1612–9. Epub 2012/06/09. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35401> PMID: 22678952
44. Ataman ZA, Gaidhar L, Sorensen BR, Hell JW, Shea MA. The NMDA receptor NR1 C1 region bound to calmodulin: structural insights into functional differences between homologous domains. *Structure*. 2007; 15(12):1603–17. Epub 2007/12/13. <https://doi.org/10.1016/j.str.2007.10.012> PMID: 18073110
45. Lemke JR, Geider K, Halbig KL, Heyne HO, Schutz H, Hentschel J, et al. Delineating the GRIN1 phenotypic spectrum: A distinct genetic NMDA receptor encephalopathy. *Neurology*. 2016. Epub 2016/05/11.
46. Marini C, Datta F, Specchio N, Mei D, Terracciano A, Parmeggiani L, et al. Focal seizures with affective symptoms are a major feature of PCDH19 gene-related epilepsy. *Epilepsia*. 2012; 53(12):2111–9. Epub 2012/09/06. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03649.x> PMID: 22946748
47. van Harsfel JJ, Weckhuysen S, van Kempen MJ, Hardies K, Verbeek NE, de Kovel CG, et al. Clinical and genetic aspects of PCDH19-related epilepsy syndromes and the possible role of PCDH19 mutations in males with autism spectrum disorders. *Neurogenetics*. 2013; 14(1):23–34. Epub 2013/01/22. <https://doi.org/10.1007/s10049-013-0353-1> PMID: 23334464
48. Scheffer IE. Epilepsy genetics revolutionizes clinical practice. *Neuropediatrics*. 2014; 45(2):70–4. Epub 2014/03/13. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1371508> PMID: 24615646
49. Carvill GL, Heavin SB, Yendle SC, McMahon JM, O'Roak BJ, Cook J, et al. Targeted resequencing in epileptic encephalopathies identifies de novo mutations in CHD2 and SYNGAP1. *Nature genetics*. 2013; 45(7):825–30. Epub 2013/05/28. <https://doi.org/10.1038/ng.2646> PMID: 23708187
50. Hildebrand MS, Myers CT, Carvill GL, Regan BM, Damiano JA, Mullen SA, et al. A targeted resequencing gene panel for focal epilepsy. *Neurology*. 2016; 86(17):1605–12. Epub 2016/04/01. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002608> PMID: 27029629
51. Kodera H, Kato M, Nord AS, Walsh T, Lee M, Yamanaka G, et al. Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2013; 54(7):1262–9. Epub 2013/05/15. <https://doi.org/10.1111/epi.12203> PMID: 23682938
52. Hata Y, Yoshida K, Kinoshita K, Nishida N. Epilepsy-Related Sudden Unexpected Death: Targeted Molecular Analysis of Inherited Heart Disease Genes using Next-Generation DNA Sequencing. *Brain Pathol*. 2016. Epub 2016/05/03.
53. Trump N, McTague A, Brittain H, Papandreou A, Meyer E, Ngoh A, et al. Improving diagnosis and broadening the phenotypes in early-onset seizure and severe developmental delay disorders through gene panel analysis. *Journal of medical genetics*. 2016. Epub 2016/03/20.
54. Wang W, Wang C, Dawson DB, Thorland EC, Lundquist PA, Eckloff BW, et al. Target-enrichment sequencing and copy number evaluation in inherited polyneuropathy. *Neurology*. 2016; 86(19):1762–71. Epub 2016/05/11. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002658> PMID: 27164712
55. Mercimek-Mahmutoglu S, Patel J, Cordeiro D, Hewson S, Callen D, Donner EJ, et al. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia*. 2015; 56(5):707–16. Epub 2015/03/31. <https://doi.org/10.1111/epi.12954> PMID: 25818041
56. Allen AS, Berkovic SF, Cosselle P, Delanty N, Dlugos D, Eichler EE, et al. De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature*. 2013; 501(7466):217–21. Epub 2013/08/13. <https://doi.org/10.1038/nature12439> PMID: 23934111
57. EuroEPINOMICS-RES Consortium EPGP, and Epi4K Consortium. De novo mutations in synaptic transmission genes including DNMT1 cause epileptic encephalopathies. *American journal of human genetics*. 2014; 95(4):360–70. Epub 2014/09/30. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.08.013> PMID: 25262651
58. Halbig KL, Farwell Hagman KD, Shinde DN, Mroske C, Powis Z, LIS, et al. Diagnostic exome sequencing provides a molecular diagnosis for a significant proportion of patients with epilepsy. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*. 2016. Epub 2016/01/23.
59. Singh NA, Charlier C, Stauffer D, DuPont BR, Leach RJ, Melis R, et al. A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nature genetics*. 1998; 18(1):25–9. Epub 1998/01/13. <https://doi.org/10.1038/ng0198-25> PMID: 9425895
60. Katscheuer VM, Tao J, Donnelly A, Hollway G, Schwinger E, Kubart S, et al. Disruption of the seipin/threonine kinase 9 gene causes severe X-linked infantile spasms and mental retardation. *American journal of human genetics*. 2003; 72(6):1401–11. Epub 2003/05/09. <https://doi.org/10.1086/375538> PMID: 12736870

61. Saito H, Kato M, Mizuguchi T, Hamada K, Osaka H, Tohyama J, et al. De novo mutations in the gene encoding STXBP1 (MUNC18-1) cause early infantile epileptic encephalopathy. *Nature genetics*. 2008; 40(6):782–8. Epub 2008/05/13. <https://doi.org/10.1038/ng.150> PMID: 18469812
62. Baulac S, Gourfinkel-An I, Picard F, Rosenberg-Bourgin M, Prud'homme JF, Baulac M, et al. A second locus for familial generalized epilepsy with febrile seizures plus maps to chromosome 2q21-q33. *American journal of human genetics*. 1999; 65(4):1078–85. Epub 1999/09/16. <https://doi.org/10.1086/302593> PMID: 10486327
63. Escayg A, MacDonald BT, Meisler MH, Baulac S, Huberfeld G, An-Gourfinkel I, et al. Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nature genetics*. 2000; 24(4):343–5. Epub 2000/03/31. <https://doi.org/10.1038/74159> PMID: 10742094
64. Dibbens LM, Tarpey PS, Hynes K, Bayly MA, Scheffer IE, Smith R, et al. X-linked protocadherin 19 mutations cause female-limited epilepsy and cognitive impairment. *Nature genetics*. 2008; 40(6):776–81. Epub 2008/05/13. <https://doi.org/10.1038/ng.149> PMID: 18469813
65. Van Goethem G, Merckx R, Lofgren A, Seneca S, Ceuterick C, Martin JJ, et al. Patient homozygous for a recessive POLG mutation presents with features of MEPPF. *Neurology*. 2003; 61(12):1811–3. Epub 2003/12/25. PMID: 14894057
66. Cornford EM, Hyman S, Cornford ME, Landaw EM, Delgado-Escueta AV. Interictal seizure resections show two configurations of endothelial Glut1 glucose transporter in the human blood-brain barrier. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 1998; 18(1):26–42. Epub 1998/01/15.
67. Stromme P, Mangelsdorf ME, Shaw MA, Lower KM, Lewis SM, Bruyere H, et al. Mutations in the human ortholog of Atfaleos cause X-linked mental retardation and epilepsy. *Nature genetics*. 2002; 30(4):441–5. Epub 2002/03/13. <https://doi.org/10.1038/ng862> PMID: 11889867
68. Capelli LP, Krepisch AC, Gargel-Giannetti J, Mendes MF, Rodrigues T, Varela MC, et al. Deletion of the RINGA and CHD2 genes in a child with epilepsy and mental deficiency. *European journal of medical genetics*. 2012; 55(2):132–4. Epub 2011/12/20. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2011.10.004> PMID: 22178256
69. Zollino M, Gurrieri F, Orteschi D, Marangi G, Leuzzi V, Neri G. Integrated analysis of clinical signs and literature data for the diagnosis and therapy of a previously undescribed 6p21.3 deletion syndrome. *European journal of human genetics*. EJMGS. 2011; 19(2):239–42. Epub 2010/12/02. <https://doi.org/10.1038/ejmg.2010.172> PMID: 21119708
70. Ding YX, Zhang Y, He B, Yue WH, Zhang D, Zou LP. A possible association of responsiveness to adrenocorticotrophic hormone with specific GRIN1 haplotypes in infantile spasms. *Developmental medicine and child neurology*. 2010; 52(11):1028–32. Epub 2010/08/21. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2010.03746.x> PMID: 20722683
71. Allen NM, Conroy J, Shahwan A, Lynch B, Correa RG, Pena SD, et al. Unexplained early-onset epileptic encephalopathy: Exome screening and phenotype expansion. *Epilepsia*. 2016; 57(1):e12–7. Epub 2015/12/10. <https://doi.org/10.1111/epi.13250> PMID: 26648591
72. Kobayashi Y, Tohyama J, Kato M, Akasaka N, Magara S, Kawashima H, et al. High prevalence of genetic alterations in early-onset epileptic encephalopathies associated with infantile movement disorders. *Brain & development*. 2016; 38(3):285–92. Epub 2015/10/21.
73. Stefano P, Vari MS, Mazzocchi C, Venuti A, Zati F. Management of genetic epilepsies: From empirical treatment to precision medicine. *Pharmacological research*. 2016; 107:426–9. Epub 2016/04/16. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.04.006> PMID: 27080588
74. Symonds JD, Zuberi SM, Johnson MR. Advances in epilepsy gene discovery and implications for epilepsy diagnosis and treatment. *Current opinion in neurology*. 2017; 30(2):193–9. Epub 2017/02/18. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000433> PMID: 28212175

- *Revista de Neurología*: Rev Neurol. 2017;64:S77-S80.

¿CÓMO DEBEMOS ABORDAR LAS ENCEFALOPATÍAS EPILEPTICAS DEL LACTANTE?

¿Cómo debemos abordar las encefalopatías epilépticas del lactante? Conclusiones

Víctor Soto-Insuga

Resumen. Las encefalopatías epilépticas se definen como los síndromes epilépticos en los que la actividad epiléptica *per se* (en forma de crisis frecuentes o presencia de actividad epileptiforme intercrítica) contribuye a un trastorno cognitivo y conductual mayor de lo esperable por la etiología del trastorno. Es fundamental un diagnóstico etiológico de ellas que nos permita un tratamiento precoz. Proponemos un algoritmo diagnóstico para los pacientes con encefalopatía epiléptica de inicio en el primer año de vida, en el que se incluye el abordaje coordinado de estudios electroencefalográficos, neuroimagen, y cribado de trastornos metabólicos y genéticos.

Palabras clave. Encefalopatía epiléptica. Encefalopatía mioclónica precoz. Epilepsia genética. Epilepsia migratoria maligna del lactante. Espasmos epilépticos. Síndrome de Ohtahara.

Justificación de un algoritmo diagnóstico en las encefalopatías epilépticas del lactante

Las encefalopatías epilépticas se han definido en la última clasificación de Liga Internacional contra la Epilepsia de 2010 como los síndromes epilépticos en los que la actividad epiléptica *per se* (en forma de crisis frecuentes o presencia de actividad epileptiforme intercrítica) contribuye a un trastorno cognitivo y conductual mayor de lo esperable a la etiología del trastorno. La fisiopatología exacta mediante la cual estas descargas epilépticas empeoran el funcionamiento cerebral se desconoce, aunque se han propuesto mecanismos potenciales, como la alteración de los canales iónicos, el trastorno de la reorganización sináptica o de la neurogenia, la apoptosis y, últimamente, se han relacionado especialmente con la disfunción de redes neuronales (*neuronal networks*) [1].

Ocurren principalmente en el primer año de vida y se traducen en una regresión o no adquisición de diferentes ítems madurativos [2].

En esta revisión se abordan las encefalopatías epilépticas que comienzan en el primer año de vida, entre las que se incluyen: síndrome de Ohtahara, encefalopatía mioclónica precoz, síndrome de West-espasmos infantiles, epilepsia migratoria maligna del lactante y encefalopatía epiléptica inclasificable. Hemos incluido el síndrome de Dravet porque aunque la regresión en el aprendizaje suele ocurrir a partir del segundo año de vida, las crisis (general-

mente febriles focales o en forma de estado epiléptico) suelen iniciarse en el periodo del lactante [3].

Aunque son cuadros clínicos muy graves, un tratamiento eficaz y precoz de las encefalopatías epilépticas se puede traducir en algunos casos en un mejor pronóstico no sólo de la epilepsia, sino de los trastornos de aprendizaje y conductuales asociados [4].

El diagnóstico etiológico ante una encefalopatía epiléptica es muy amplio, y debería hacerse de forma precoz y sistemática. Lamentablemente, hay muy pocos protocolos establecidos. La variabilidad fenotípica de los trastornos genéticos y metabólicos (una misma variante patógena en un gen puede manifestarse con distintos fenotipos), así como la variabilidad etiológica, de forma que un mismo síndrome epiléptico puede ser causado por diferentes alteraciones genéticas-metabólicas, complica la elaboración de una guía de manejo de niños con encefalopatías epilépticas. Esto, unido al descubrimiento de genes responsables de encefalopatías epilépticas en los últimos años, hace que los escasos protocolos previos, a pesar de su rigor científico, queden rápidamente desactualizados [5,6].

En los artículos previos, siete especialistas en epilepsia infantil de diferentes especialidades (neuropediatría, neurorradiología y neurofisiología) hemos revisado diferentes aspectos en el manejo de lactantes con encefalopatías epilépticas. Hemos querido concluir esta revisión con una propuesta sobre la actitud diagnóstica ante encefalopatías epilépticas en el primer año de vida (Figura), que pretende

Servicio de Neuropediatría.
Fundación Jiménez Díaz, Madrid,
España.

Correspondencia:
Dr. Víctor Soto-Insuga. Servicio de
Neuropediatría, Fundación Jiménez
Díaz, Avda. Reyes Católicos, 2.
E-28040 Madrid.

E-mail:
vicosoninsuga@gmail.com

Declaración de intereses:
No existen conflictos de intereses
por parte del autor del manuscrito.

Aceptado:
10.04.17.

Cómo citar este artículo:
Soto-Insuga V. ¿Cómo debemos
abordar las encefalopatías epilépticas
del lactante? Conclusiones. Rev
Neurol 2017; 64 (Supl 3): S77-80.

© 2017 Revista de Neurología

V. Soto-Insua

Figura. Abordaje diagnóstico de las encefalopatías epilépticas del lactante. ¹ Encefalopatías epilépticas: síndrome de Ohtahara, encefalopatía mioclónica precor, síndrome de West, espasmos infantiles, síndrome de Dravet, epilepsia migratoria maligna del lactante y encefalopatía epiléptica inclassificable. ² Perfil metabólico básico en sangre: gasometría venosa, ionograma (anión GAP), amonio, láctico, glucosa, cetonemia y perfil hepático. ³ La realización de un estudio metabólico ampliado se individualizará según cada paciente, teniendo en cuenta el síndrome epiléptico, los hallazgos en neuroimagen, la presencia de otros síntomas, los antecedentes familiares, la disponibilidad de realización de pruebas complementarias, la demora en la realización de éstas y la respuesta al tratamiento. ⁴ Perfil metabólico ampliado (debe extraerse de manera conjunta): a) Sangre. Ácido fólico, glucosa, ácido úrico, vitamina B₁₂, lactato. Aminoácidos. Acilcarnitinas. Actividad de biotinidasa. Homocisteína total. Ácido pipercolico y α -aminoácido semialdehído. Estudio de defectos congénitos de glucosilación. Creatina y guanidinoacetato. Cobre y ceruloplasmina (si es varón). Ácidos grasos de cadena muy larga (en caso de fenotipo compatible con síndrome de Zellweger). b) Orina (24 horas). Aminoácidos. Ácidos orgánicos. Guanidinoacetato. Sulfolisteína (sulfitest). Estudio de deficiencia de adenosuccinasa (test de SAICAR). Purinas y pirimidinas. c) Líquido cefalorraquídeo (en los siguientes 10-15 minutos tras el análisis sanguíneo). Células, proteínas, glucosa (ratio glucosa en el líquido cefalorraquídeo/sangre). Aminoácidos. Lactato. Neurotransmisores. Piridoxal 5-fosfato. Metiltetrahidrofolato. ⁵ Los hallazgos deberían confirmarse mediante técnica Sanger y estudio de dicho gen en los progenitores (estudio de segregación). ⁶ Se recomienda el tratamiento empírico con piridoxina y biotina. Si no hay respuesta a la piridoxina, en los casos sugestivos hay que valorar sustituirla por piridoxal fosfato. Dosis de cofactores: piridoxina (30 mg/kg/día cada 8 horas), biotina (20-200 mg/día), piridoxal fosfato (30-50 mg/kg/día cada 3-6 dosis).



integrar las revisiones realizadas por el resto de compañeros en espera de que en los próximos años se desarrollen guías clínicas de manejo para estos niños. Es una propuesta general en la que hay que considerar que cada paciente es único y debe tener un abordaje diagnóstico diferente.

Anamnesis, exploración neurológica y videoelectroencefalograma

El aspecto más importante en el diagnóstico es una adecuada anamnesis que nos permita diferenciar una crisis epiléptica de trastornos paroxísticos no epilépticos. Para ello, los videos caseros de los episodios sugestivos realizados por los padres o cuidadores pueden ser de gran ayuda [7]. Como en cualquier paciente neurológico, es importante recoger datos acerca del embarazo, el período perinatal y la presencia de antecedentes neurológicos en la familia (especialmente epilepsia y trastornos del movimiento).

Con la exploración pediátrica podemos distinguir claves diagnósticas, como la presencia de dismorfias (características en algunos casos de cromosomopatías/trastornos genéticos u otros trastornos metabólicos, como la enfermedad de Menkes o la fenilketonuria), de estigmas cutáneos (como las manchas hipocrómicas presentes en la esclerosis tuberosa) y de alteraciones cardiológicas o palpación de visceromegalias (enfermedades de depósito, trastornos de la β -oxidación de los ácidos grasos) [8].

Para confirmar que el paciente sufre una encefalopatía epiléptica, es imprescindible un videoelectroencefalograma que incluya vigilia y sueño, procurando un registro de crisis. De esta forma podremos definir el síndrome electroclínico y el tipo de encefalopatía epiléptica del lactante [9]. Una vez que se ha confirmado el diagnóstico de encefalopatía epiléptica, se debe hacer un diagnóstico etiológico amplio que incluya neuroimagen, estudio metabólico y estudio genético.

Neuroimagen

La resonancia craneal se considera la principal prueba complementaria para el diagnóstico etiológico de encefalopatías epilépticas. Su utilidad no sólo se basa en la posibilidad de diferenciar los casos estructurales (malformaciones cerebrales, síndromes neurocutáneos, hallazgos sugestivos de encefalopatía hipóxico-isquémica...), sino que la presencia de determinados hallazgos puede apuntar hacia una

etiología genética o metabólica: por ejemplo, la presencia de quistes aracnoides y alteración de los núcleos caudados en la aciduria glutárica de tipo 1 [10] o el hallazgo de hiperintensidades en T₂ en el globo pálido autolimitadas en el periodo neonatal que son muy sugestivas de mutación en *KCNQ2* [11]. Además, se pueden usar técnicas no morfológicas, como la difusión por resonancia magnética y la espectroscopia, la cual aporta la posibilidad de detectar picos de lactato (sugestivos de enfermedad mitocondrial) o ausencia de picos de creatina (diagnóstica de trastornos de la creatina) [12].

Estudio metabólico

Aunque los trastornos metabólicos son una causa infrecuente de encefalopatías epilépticas, es fundamental su identificación precoz por sus implicaciones terapéuticas. No sólo resulta importante para evitar fármacos antiepilépticos potencialmente tóxicos, como es el caso del ácido valproico en las enfermedades mitocondriales o el fenobarbital en el déficit de transportador de glucosa cerebral, sino que hay trastornos metabólicos que si no se tratan de manera específica, pueden empeorar su pronóstico neurológico [13]. En este sentido, trastornos como el déficit de piridoxina, de piridoxal-5-fosfato, de creatina cerebral, de serina, de holocarboxilasa sintetasa y de transportador de glucosa o tiamina cerebral deben ser identificados e iniciar tratamiento con cofactores o vitaminas específicos para mejorar no sólo su epilepsia, sino su pronóstico neurológico [14,15]. En algunos casos de presentación atípica es necesario mantener un alto índice de sospecha, como ocurre en los pacientes con deficiencia de piridoxina [16,17] o de GLUT-1 que responden inicialmente a fármacos antiepilépticos.

Debido a las implicaciones pronósticas secundarias al inicio precoz de tratamientos específicos, es recomendable valorar iniciar un tratamiento asociado con piridoxina y biotina tras confirmarse el diagnóstico de encefalopatía epiléptica, que se puede retirar tras haberse descartado una causa metabólica o tras confirmar el diagnóstico de encefalopatía epiléptica estructural o genética [18]. Si no hay respuesta a la piridoxina, en los casos sugestivos de mutaciones del gen de piridoxamina fosfato oxidasa (*PNPO*), se recomienda valorar su sustitución por piridoxal fosfato [19].

La piridoxina, incluso en lactantes con epilepsia de causa no metabólica, puede ser efectiva como tratamiento antiepiléptico [20]. Hay que recordar como posible efecto secundario la aparición de una

marcada depresión del sistema nervioso central y de apnea respiratoria al inicio del tratamiento (también si se administra la piridoxina por vía oral) [21].

Algunos autores incluso recomiendan el tratamiento inicial de manera empírica con cofactores en niños con epilepsia grave de inicio en los tres primeros años de vida [22].

Estudio genético

En los últimos años se ha descubierto (y se sigue descubriendo) un elevado número de genes relacionados con síndromes epilépticos, lo que supone una modificación de los algoritmos diagnósticos en la epilepsia infantil.

Aunque puede haber algún dato clínico que haga sospechar mutaciones en genes específicos, como la presencia de genitales ambiguos en lactantes con mutaciones en el gen *ARX*, un mismo fenotipo puede estar causado por diferentes mutaciones, por lo que es más rentable y eficiente realizar un abordaje mediante paneles de múltiples genes implicados en encefalopatías epilépticas con secuenciaciones de nueva generación antes que realizar un análisis secuencial. En un estudio reciente, el análisis mediante este tipo de paneles de genes de encefalopatías epilépticas consiguió tres veces más diagnósticos que los estudios genéticos convencionales, sin tener en cuenta la demora diagnóstica que supone realizar un estudio 'gen a gen' [23]. Actualmente se supone que los paneles múltiples de genes permiten el diagnóstico en un 10-30% de los casos de niños con encefalopatías epilépticas [24].

Una vez identificada una variante patógena en un gen, es recomendable realizar el análisis de segregación en progenitores (para saber si es *de novo*) y confirmarla mediante la técnica Sanger.

Actualmente no existe una clara relación genotipo-fenotipo, excepto en el síndrome de Dravet, ante el cual es recomendable un estudio dirigido a las mutaciones en el gen *SCN1A* (y, en ocasiones, en el gen *PCDH19*) [25].

La secuenciación exómica (*whole exome sequencing*) es una técnica que, aunque en los próximos años es probable que se posicione como la prueba genética a realizar en primer lugar en la práctica clínica, actualmente, dada la gran cantidad de información que aporta sobre variantes genéticas de significado incierto, su uso suele estar más restringido al ámbito de la investigación [26,27].

Ante pacientes con rasgos dismórficos o síndrome polimalformativo sería recomendable iniciar el estudio genético mediante técnicas más generales,

como *array* de hibridación genómica comparativa. En ausencia de estos rasgos, consideramos el panel de genes como la técnica genética más coste-eficiente ante un lactante con encefalopatía epiléptica.

Bibliografía

- Howell KB, Harvey AS, Archer JS. Epileptic encephalopathy: use and misuse of a clinically and conceptually important concept. *Epilepsia* 2016; 57: 343-7.
- Von Deimling M, Hebig I, Marsh ED. Epileptic encephalopathies—clinical syndromes and pathophysiological concepts. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2017; 17: 10.
- Hattori J, Ouchida M, Oro J, Miyake S, Maruwa S, Mimaki N, et al. A screening test for the prediction of Dravet syndrome before one year of age. *Epilepsia* 2008; 49: 626-33.
- O'Callaghan FJ, Lux AL, Darke K, Edwards SW, Hancock E. The effect of lead time to treatment and of age of onset on developmental outcome at 4 years in infantile spasms: evidence from the United Kingdom Infantile Spasms Study. *Epilepsia* 2011; 52: 1359-66.
- Mastrangelo M, Celato A, Leuzzi V. A diagnostic algorithm for the evaluation of early onset genetic-metabolic epileptic encephalopathies. *Eur J Paediatr Neurol* 2012; 16: 179-91.
- Hwang SK, Kwon S. Early-onset epileptic encephalopathies and the diagnostic approach to underlying causes. *Korean J Pediatr* 2015; 58: 407-14.
- Duker AP. Video recording in movement disorders: practical issues. *Continuum (Minneapolis)* 2013; 19: 1401-5.
- Nordli DR Jr. Epileptic encephalopathies in infants and children. *J Clin Neurophysiol* 2012; 29: 420-4.
- Gürsoy S, Erçel D. Diagnostic approach to genetic causes of early-onset epileptic encephalopathy. *J Child Neurol* 2016; 31: 523-32.
- Mohammad SA, Abdelkhalik HS, Ahmed KA, Zaki OK. Glutaric aciduria type 1: neuroimaging features with clinical correlation. *Pediatr Radiol* 2015; 45: 1696-705.
- Kato M, Yamagata T, Kubota M, Arai H, Yamashita S, Nakagawa T, et al. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia* 2013; 54: 1282-7.
- Clark JE, Cecil KM. Diagnostic methods and recommendations for the cerebral creatine deficiency syndromes. *Pediatr Res* 2015; 77: 398-405.
- Ruiz M, Santana C. Enfoque práctico para el diagnóstico de los errores congénitos del metabolismo. *Acta Pediatr Esp* 1998; 56: 39-52.
- Stockler S, Ploekel B, Gospe SM Jr, Coulter-Mackie M, Connolly M, Van Karnebeek C, et al. Pyridoxine dependent epilepsy and antiquitin deficiency: clinical and molecular characteristics and recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Mol Genet Metab* 2011; 104: 48-60.
- Peng AW, Geary BR, Engelstad KM, Natarajan A, Yang H, De Vivo DC. Glucose transporter type I deficiency syndrome: epilepsy phenotypes and outcomes. *Epilepsia* 2012; 53: 1503-10.
- Baxter P. Pyridoxine-dependent and pyridoxine-responsive seizures. *Dev Med Child Neurol* 2001; 43: 416-20.
- Lin J, Lin K, Masruha MR, Vilanova LC. Pyridoxine-dependent epilepsy initially responsive to phenobarbital. *Arg Neuropsiquiatr* 2007; 65: 1026-9.
- Coker SB. Postneonatal vitamin B6-dependent epilepsy. *Pediatrics* 1992; 90: 221-3.
- Hofmann GF, Schmitt B, Windfuhr M, Wagner N, Strehl H, Blöchl S, et al. Pyridoxal 5'-phosphate may be curative in early-onset epileptic encephalopathy. *J Inher Metab Dis* 2007; 30: 96-9.
- Pietz J, Benninger C, Schäfer H, Sontheimer D, Mittermaier G, Rating D. Treatment of infantile spasms with high-dosage vitamin B6. *Epilepsia* 1993; 34: 757-63.
- Kroll JS. Pyridoxine for neonatal seizures: an unexpected danger. *Dev Med Child Neurol* 1985; 27: 369-82.
- Lebon S, Suarez P, Alija S, Korif CM, Huss J. When should clinicians search for GLUT1 deficiency syndrome in childhood generalized epilepsies? *Eur J Paediatr Neurol* 2015; 19: 170-5.
- Ream MA, Mikati MA. Clinical utility of genetic testing in pediatric drug-resistant epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Behav* 2014; 37: 241-8.
- Chambers C, Jansen LA, Dhamija R. Review of commercially available epilepsy genetic panels. *J Genet Couns* 2016; 25: 213-7.
- Stenhouse SA, Ellis R, Zuberi S. SCN1A genetic test for Dravet syndrome (severe myoclonic epilepsy of infancy and its clinical subtypes) for use in the diagnosis, prognosis, treatment and management of Dravet syndrome. *PLoS Curr* 2013; 25: 5.
- Martin HC, Kim GE, Pagnamenta AT, Murakami Y, Carvill GL, Meyer E, et al. Clinical whole-genome sequencing in severe early-onset epilepsy reveals new genes and improves molecular diagnosis. *Hum Mol Genet* 2014; 23: 5200-11.
- Dyment DA, Tétrault M, Beaulieu CL, Hartley T, Ferreira P, Chardon JW, et al. Whole-exome sequencing broadens the phenotypic spectrum of rare pediatric epilepsy: a retrospective study. *Clin Genet* 2015; 88: 34-40.

How must we manage epileptic encephalopathies in infants? Conclusions

Summary. Epileptic encephalopathies are defined as epileptic syndromes in which the epileptic activity per se (in the form of frequent seizures or the presence of interictal epileptiform activity) contributes to a cognitive and behavioural disorder that is more important than could be expected from the causation of the disorder. Their aetiological diagnosis is fundamental to allow an early treatment to be established. We propose a diagnostic algorithm for patients with epileptic encephalopathy with onset during the first year of life, which includes management coordinated with electroencephalographic studies, neuroimaging, and screening for metabolic and genetic disorders.

Key words. Early-onset myoclonic encephalopathy. Epileptic encephalopathy. Epileptic spasms. Genetic epilepsy. Malignant migrating epilepsy in infancy. Ohtahara syndrome.

12.7. PONENCIAS EN CONGRESOS RELACIONADAS CON EL ESTUDIO



- “Espasmos epilépticos: ¿es siempre el pronóstico desfavorable?”. Losada R, Martínez E, **Soto Insuga V**, Rodrigo M, Díaz E, Serratosa JM. Comunicación póster en el IV Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2017.
- “Encefalopatía epiléptica por mutación en *KCNA2*”. Martínez PL, Olivé L, **Soto Insuga V**, Guerrero R, González B, Serratosa JM. Comunicación oral **premiada como mejor comunicación oral** en IV Congreso Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2017.
- ¿Y la genética me va a servir para algo doctor? Impacto del estudio genético en el manejo médico de pacientes con epilepsia. **Soto Insuga V**, Guerrero R, Rodrigo M, Losada R, González B, Serratosa JM. Comunicación oral **premiada como mejor comunicación oral** en el III Congreso de Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2016.
- “Mutación en el gen *DNM1* como causa de encefalopatía epiléptica discinética”. Moreno B, **Soto Insuga V**, Rodrigo M, Losada R, Guerrero R, Serratosa JM. Comunicación póster en III Congreso de Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2016.
- “Caracterización clínica de una peculiar forma de epilepsia infantil: epilepsia refleja inducida por el llanto”. Oses M, **Soto Insuga V**, Castaño C, Martínez Bermejo A, González B, Guerrero R, Losada R, Rodrigo M, Serratosa JM. Comunicación poster en III Congreso Sociedad Española Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2016.

- Mutaciones en el gen *GRIN1* como causa de encefalopatía epiléptica. **Soto Insuga V**, Guerrero R, Rodrigo M, Losada R, González B, Serratosa JM. Comunicación póster en el II Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2015.
- "Identificación de mutaciones en *GRIN2A* y *CNKSR2* en varones con alteraciones del lenguaje y un patrón de punta-onda continua en sueño lento". Guerrero R, González B, **Soto Insuga V**, Ayuso I, Losada R, Rodrigo M, Gómez E, Iglesias G, Sánchez G, Ortega L, Serratosa JM. Comunicación oral en el II Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2015.
- "Epilepsia refleja del llanto y su difícil diagnóstico". Martínez M, **Soto Insuga V**, Castaño de la Mota C, González B, Martínez Bermejo A, Serratosa JM. Comunicación póster en el II Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2015.
- "Encefalopatía epiléptica tipo punta onda durante el sueño en gemelos monocigotos secundaria a mutación del gen *KANSL1*". Castaño C, **Soto Insuga V**, Lorda I, Losada R, Zurita J, Guerrero R. Comunicación póster en el II Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2015.
- "Ausencias con características atípicas secundarias a mutaciones en el *SLC2A1*". **Soto Insuga V**, Ortega-Moreno L, Guerrero López R, Sánchez Martín G, González Giráldez B, Serratosa Fernández JM. Comunicación oral I Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2014.
- "Análisis genético secuencia de encefalopatías epilépticas de la infancia mediante secuenciación clásica, de panel o exómica". González Giráldez B, Ortega-Moreno L, **Soto Insuga V**, Losada R, Sierra-Marcos A, Sánchez G, Guerrero-López R, Serratosa JM. Comunicación oral I Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2014.

- "Reacción inesperada tras tratamiento antiepiléptico con corticoides". Martínez M, **Soto Insuga V**, Losada R, Rodrigo M, González B, Serratosa JM. Póster I Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2014.
- "Seguridad y eficacia del tratamiento con metilfenidato en niños con POCS". García-Ron A, **Soto Insuga V**, Bustamante MC, González B, Blanco R, Sierra J, Losada R. Póster I Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2014.
- "Epilepsia focal idiopática y disgrafía". Losada R, **Soto Insuga V**, Martínez M, RodrigoM, González Giráldez B, Serratosa Fernández JM. Póster I Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Octubre 2014.



- "Misma mutación, distintas caras: variabilidad fenotípica de pacientes con mutación en gen *GRIN2A*". **Soto Insuga V**, Guerrero R, Moreno B, Martínez E, Rodrigo M, Díaz E. Comunicación oral en la XL Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Madrid. Mayo 2017.
- Mutaciones en gen *GRIN2A* como responsables del epilepsia del espectro afasia epilepsia. **Soto Insuga V**, Guerrero R, Rodrigo M, González B, Iglesias G, López G, Cordero C, Losada R, Prados M, Serratosa JM, Cantarín V. Comunicación oral en la XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Toledo. Mayo 2016.
- Evolución clínica de un caso de encefalopatía epiléptica secundaria a mutación del gen *STXBP1*. Tirado P, **Soto Insuga V**, Rubio L, Alba M, Velázquez R, Hernández L, Serratosa JM, Palomares M, Santo F, García S, Martínez Bermejo A. Comunicación

- oral en la XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Toledo. Mayo 2016.
- Conocimiento del personal docente de epilepsia en colegios. Losada R, **Soto Insuga V**, Martín F, Ruiz Falcó ML, Cantarín V, Duat A, Gutiérrez N. Comunicación oral en la XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Toledo. Mayo 2016.
 - ¿Podemos definir un fenotipo en la encefalopatía epiléptica por mutación del gen *KCNQ2*? Tirado P, García M, Alba M, Rubio L, **Soto Insuga V**, Santos F, Palomares M, García S, Barroso E, Vallespón E, Serratosa JM. Comunicación oral en la XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Toledo. Mayo 2016.
 - Proyecto epilepsia conócela. Losada R, Martín F, Ruiz Falco ML, **Soto Insuga V**, Cantarín V, Duat Am Gutiérrez N, Bernardino B, Buenache R, Rodrigo M. Comunicación oral en la XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Toledo. Mayo 2016.
 - Evolución clínica de un caso de encefalopatía epiléptica secundaria a mutación del gen *STXBP1*. Tirado P, **Soto Insuga V**, Rubio L, Alba M, Velázquez R, Hernández L, Serratosa JM, Palomares M, Santo F, García S, Martínez Bermejo A. Comunicación póster en en la XXXIX Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Toledo. Mayo 2016.
 - Ampliación del estudio de ausencias con características "atípicas" secundarias a mutación en el gen *SLC2A1*. **Soto Insuga V**, Ortega Moreno L, Guerrero López R, González Giráldez B, Losada Del Pozo, R, Rodrigo Moreno M, Cantarín Extremera, V, Prados Álvarez M, Martínez González M, Serratosa Fernández JM, García Pérez MA. Comunicación oral en la XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Logroño. Mayo 2015.
 - "Trastornos psiquiátricos tras tratamientos antiepilépticos eficaces ¿Normalización forzada o efecto secundario?". Martínez M, **Soto Insuga V**, Losada R, Rodrigo M, González B, Serratosa JM, Carballo JJ. Comunicación póster en Comunicación oral

en la XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad Española de Neuropediatría (SENEP). Logroño. Mayo 2015.

- “Estatus epiléptico. Características y resultados de tratamiento empleado en 50 casos infantiles. Estudio multicéntrico”. Blanco R, García A, Castaño C, **Soto Insuga** “Ampliando el fenotipo de mutaciones en el gen *ARX*: mujer con retraso mental y diplejía espástica”. **Soto Insuga V**, Blanco F, Rodrigo M, Lordá I, Babín L, Losada R, Martínez M, Blanco M, Soriano L. Comunicación oral IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Neurología Pediátrica (SENEP). Palma de Mallorca. Junio 2014.
- “Anomalías epileptiformes en electroencefalograma de sueño en pacientes con epilepsia de ausencias infantil”. Rodrigo M, **Soto Insuga V**, González B, Losada R, Martínez M, Babín L. Comunicación oral IX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Neurología Pediátrica (SENEP). Palma de Mallorca. Junio 2014.



- “Atrofia cortical reversible secundaria a tratamiento con ácido valproico”. Rodríguez-Catalán J, **Soto Insuga V**, Losada del Pozo R, Rodrigo Moreno M, Montes Arjona AM, González Giráldez B. Comunicación póster en el LXIV Congreso de la Asociación Española de Pediatría (AEPED). Valencia 2016.



- "Identificación de variantes genéticas en las epilepsias de la infancia mediante un panel genético".. Ortega-Moreno L, Guerrero-López R, Giráldez BG, **Soto Insuga V**, Losada R, Rodrigo M, Sánchez-Martín G, Serratosa JM. VIII Reunión Anual CIBERER. Madrid. Marzo 2015.

12.8. CHARLAS COMO PONENTE RELACIONADAS CON EL ESTUDIO

- “Síndromes epilépticos con punta onda continua durante el sueño”. I Curso de Manejo Práctico de la Epilepsia en la Edad Pediátrica. Barcelona. Enero 2018.
- “Tratamiento inicial de espasmos infantiles”. Sesión plenaria en IV Congreso de la Sociedad Española de Epilepsia (SEEP). Madrid. Octubre 2017.
- “¿Cómo debemos abordar las encefalopatías epilépticas”. Mesa Redonda en XL Congreso SENEPE. Madrid. Mayo 2017
- “Avances en encefalopatías epilépticas por mutaciones en los canales de potasio: focus en KCNQ2”. Madrid. I Reunión Médicos y Pacientes afectados de mutación en KCNQ2. Madrid. Abril 2017.
- “Ausencias atípicas”. XIII Curso de Invierno de Epilepsia. La Granja, Segovia. Febrero 2016.
- “Convulsiones”. I Curso de Actualización en Urgencias Pediátricas. Fundación Jiménez Díaz. Madrid. Junio 2015.

“Este no es el final, no es ni siquiera el principio
del final. Puede ser, más bien,
el final del principio.”

Winston Churchill 1942